PENGARUH EKSTRAK *Sargassum* spp DENGAN PELARUT HEKSAN DAN ETIL ASETAT TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella typhii, Eschericia coli* Dan *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :
NICKY AKBAR
NIM. 125080309111001

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

PENGARUH EKSTRAK *Sargassum* spp DENGAN PELARUT HEKSAN DAN ETIL ASETAT TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella typhii, Eschericia coli* Dan *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh :
NICKY AKBAR
NIM. 125080309111001

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

[illegible]

Dosen Penguji I

(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc, Rh.D)
NIP. 19640919 198903 1 002

Tanggal:

Dosen Penguji Ii

(Dr. Ir. Kartini Zailanei, MP)
NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919200501 1 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)
NIP. 19600003221198601 1 001

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

[illegible]

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Agustus 2014

Mahasiswa

Nicky Akbar

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa, atas berkat dan karunianya, penulis bisa menyelesaikan Laporan Skripsi. Laporan Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Pembuatan laporan skripsi ini tidak luput dari bantuan banyak pihak untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Ibu, Ayah, Kakak, Adik dan semua keluarga yang yang tidak bosan-bosannya mendoakan penulis dan telah memberikan dukungan baik dari segi moril dan materil kepada penulis.
3. Bapak Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP selaku dosen pembimbing satu yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan yang bermanfaat selama Skripsi ini.
4. Bapak Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen pembimbing dua yang juga telah memberikan pengarahan dan bimbingan yang bermanfaat selama Skripsi ini.
5. Teman-teman ALJERS yang telah banyak membantu penulis selama menimba ilmu di kampus tercinta Universitas Brwaijaya.
6. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan pembuatan laporan skripsi ini.

Malang, Agustus 2014

Penulis

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

NICKY AKBAR (NIM 105080313111014). Skripsi Tentang Pengaruh Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil Asetat Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Muhammad Firdaus., MP** dan **Dr. Ir. Happy Nursyam, MS**)

Sargassum spp merupakan jenis alga coklat yang mengandung senyawa bioaktif salah satu kandungan senyawa bioaktifnya sebagai antibakteri. *Sargassum* spp segar diperoleh dari perairan Madura, Jawa Timur. Ekstrak *Sargassum* spp dilarutkan menggunakan perpaduan pelarut Heksan dan Etil Asetat dengan perbandingan masing-masing 3:1. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri patogen yaitu *E. coli, Salmonela typhi* dan *S. aureus.*

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp terbaik dalam menghambat bakteri *E. coli, Salmonella* dan *S. aureus* serta mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum* spp*.* Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada April – Mei 2014.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif untuk mencapai tujuan utama yaitu mengetahui daya hambat ekstrak rumput laut *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap bakteri *S. aureus, E. Colli,* dan *S. typhii*. Dalam penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak bioaktif *Sargassum* spp. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm.

Berdasarkan hasil analisis data dengan menggunakan analisis uji fitokimia didapatkan bahwa *Sargassum* spp mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antibakteri antara lain terpenoid, alkaloid, saponin, dan flavonoid. Hasil analisis dengan metode GC-MS, diduga terdapat 5 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *Sargassum* spp antara lain *2-hexadecen-1-ol, octadecamethylcyclononasiloxane, cyclootasiloxane, benzthiaz dan silicone oil.* Hasil dari ketiga konsentrasi yaitu 15.000, 10.000 dan 5000 ppm yang digunakan sebagai konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp yang menghasilkan daya antibakteri terbaik terdapat pada konsentrasi 15000 ppm. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,07 mm.

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar digunakan ekstrak murni dari *Sargassum* spp dengan konsentrasi yang lebih tinggi, agar dihasilkan daya hambat luas yang dapat bersifat sebagai antibakteri.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah senantiasa melimpahkan rahmat dan karunianya, sehingga laporan skripsi dengan judul "Pengaruh Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil Asetat Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhii, Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*" dapat terselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP selaku dosen pembimbing 1 yang telah sabar memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen pembimbing 2 yang telah sabar memberikan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
3. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc., Ph.D dan Dr. Ir. Kartini Zailanei, MP selaku dosen penguji 1 dan dosen penguji 2 yang telah meluangkan waktunya untuk hadir pada saat ujian skripsi dan memberikan kelancaran dan kemudahan pada saat pelaksanaan ujian skripsi.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan banyak kekurangan karena keterbatasan penulis sebagai manusia biasa yang tidak pernah luput dari kesalahan. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umunya bagi pembaca.

Malang, Agustus 2014

Penuli

DAFTAR ISI

RINGKASAN ..... **v**

KATA PENGANTAR ..... **vi**

DAFTAR ISI ..... **vii**

DAFTAR TABEL ..... **ix**

DAFTAR GAMBAR ..... **x**

DAFTAR LAMPIRAN ..... **xi**

1 PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan 6
1.4 Hipotesis 6
1.5 Kegunaan Penelitian 7
1.6 Waktu dan Tempat 7

2 TINJAUAN PUSTAKA **8**
2.1 *Sargassum* spp 8
2.1.1 Deskripsi *Sargassum* spp 10
2.1.2 Kandungan *Sargassum* spp 10
2.2 Ekstraksi 12
2.3 Pelarut 14
2.3.1 Heksan 15
2.3.2 Etil Asetat 16
2.4 Antibakteri 17
2.4.1 Pertumbuhan dan Perkembangbiakkan Bakteri 18
2.4.2 Mekanisme Antibakteri 20
2.5 Senyawa Bioaktif 22
2.5.1 Uji Alkaloid 22
2.5.2 Uji Steroid dan Terpenoid 23
2.5.3 Uji Flavonoid 23
2.5.4 Uji Saponin 24
2.6 *Salmonella typhii* 26
2.6.1 Struktur Antigen 27
2.6.1 Sifat Biokimia 27
2.7 *Escherichia coli* 28
2.7.1 Klasifikasi Bakteri *E. coli* 28
2.7.2 Manfaat dan Patogenesitas 29
2.8 *Staphylococcus aureus* 29

3 METODELOGI **33**
3.1 Alat– Alat 33
3.2 Bahan 33
3.3 Metode Penelitian 34

3.4 Prosedur Penelitian 35
3.4.1 Ekstraksi *Sargassum* spp 35
3.4.2 Maserasi 37
3.4.3 Uji Cakram 38
3.5 Senyawa Bioaktif *Sargassum* spp 39
3.5.1 Uji Fitokimia 39
3.5.2 Uji GC-MS 40

4 HASIL DAN PEMBAHASAN 45
4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (uji cakram) 45
4.2 Uji Fitokimia 48
4.3 Identifikasi Senyawa Aktif 50
4.4 Mekanisme Penghambatan Bakteri 56

5 KESIMPULAN DAN SARAN 59
5.1 Kesimpulan 59
5.2 Saran 59

DAFTAR PUSTAKA 60

LAMPIRAN 64

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Karakteristik pelarut heksana 16

2. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhuan Bakteri 25

3. Kandungan Fitokimia Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil asetat 48

4. Senyawa yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat 51

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. *Sargassum polycysum* 9
2. *Sargassum echinocarphum* 9
3. *Sargassum cristaefolium* 9
4. Fase Pertumbuhan Bakteri 19
5. Bakteri *Salmonella thypii* 26
6. *Escherichia coli* 28
7. *Stapylococcus aureus* 30
8. Skema kerja daya hambat ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap *S. aureus, E. colli*, dan *S. typhii* 44
9. Hasil uji antibakteri ektrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap *S. aureus, E. coli,* dan *S. typhii* 45
10. Zona bening *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap *S. aureus, E. coli,* dan *S. typhii* 46
11. Spektra ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat..... 50
12. Struktur molekul 2-Hexadecene-1-OL 51
13. Struktur molekul *Octadecamethylcyclononasiloxane* 52
14. Struktur molekul *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl* 53
15. Struktur molekul *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl* 53
16. Struktur molekul *Benzothiazinones* 55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Berat Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil Asetat..... 65
2. Rata-Rata Rendemen Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil Asetat..... 65
3. Pembuatan Media Muller Hilton Agar (MHA)..... 65
4. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer..... 66
5. Pengenceran Bahan Uji 67
6. Perhitungan DMSO 4% dan Konsentrasi 15.000 ppm, 10.000 ppm dan 5.000 ppm…….. 68
7. Data Zona Hambat *Sargassum* spp Terhadap Pertumbuhan *S.aureus, E.coli dan S. typhi* 69
8. Dokumentasi Penelitian 70
9. Spektra ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat..... 72

1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut atau makroalga merupakan salah satu organisme laut yang berperan dalam siklus rantai makanan sebagai produser primer. Untuk mempertahankan diri dalam habitatnya, rumput laut memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari senyawa primer yang merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat essensial bagi proses metabolisme sel seperti fikokoloid, vitamin, asam lemak tak jenuh (UFA) dan karbohidrat. Senyawa sekunder (metabolit sekunder) adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid, dan alkaloid, fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Menurut Deval *dkk*. (2001),

Metabolit sekunder berperan sebagai alat pertahanan inang (host) terhadap patogen, parasit, predator, kompetitor dan epibiota dan produksinya sangat tergantung pada kondisi biogeografi (Hay, 1996). Sifat metabolit sekunder sebagai alat pertahanan diri organisme laut ternyata mempunyai potensi yang sangat besar sebagai sumber bahan obat berbagai penyakit (Winston, 1988, Cragg *dkk.*, 1997).

Intoksikasi atau keracunan adalah masuknya zat atau senyawa kima dalam tubuh manusia yang menimbulkan efek yang merugikan pada yang menggunkannya. Ada berbagai macam kelompok bahan yang dapat menyebabkan keracunan, antara lain yaitu racun yang dihasilkan oleh jenis

bakteri (*Bacterial toxicant*) contoh *Bacillus cereus, Compilobacter jejuni, Clostridium botulinum, Escherichia coli, Salmonella, Staphilococcus aureus* dll.

Bakteri adalah sel prokariot yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatasi membran didalam sitoplasmanya. Gram negatif dan gram positif adalah klasifikasi bakteri yang dibedakan dari ciri- ciri fisik bakteri tersebut. perbedaan yang mendasar terdapat pada peptidoglikan yang terkandung dalam dinding sel kedua bakteri tersebut. Pada bakteri gram positif lapisan peptidoglikannya lebih tebal, sedangkan pada gram negatif lapisan peptidoglikan lebih tipis. Keracunan pangan yang disebabkan oleh produk toksik bakteri patogen (baik itu toksin maupun metabolit toksik) disebut intoksikasi. Bakteri tumbuh pada pangan dan memproduksi toksin Jika pangan ditelan, maka toksin tersebut yang akan menyebabkan gejala, bukan bakterinya.

Beberapa bakteri patogen yang dapat mengakibatkan keracunan pangan melalui intoksikasi adalah *Staphilococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk kokus/bulat, tergolong dalam bakteri Gram-positif, bersifat aerobik fakultatif, dan tidak membentuk spora. Toksin yang dihasilkan bakteri ini bersifat tahan panas sehingga tidak mudah rusak pada suhu memasak normal. Bakteri dapat mati, tetapi toksin akan tetap tertinggal. Toksin dapat rusak secara bertahap saat pendidihan minimal selama 30 menit. *Salmonella* merupakan bakteri Gram-negatif, bersifat anaerob fakultatif, motil, dan tidak menghasilkan spora. *Salmonella* bisa terdapat pada bahan pangan mentah, seperti telur dan daging ayam mentah serta akan bereproduksi bila proses pamasakan tidak sempurna. Sakit yang diakibatkan oleh bakteri *Salmonella* dinamakan salmonellosis. Pada kebanyakan orang yang terinfeksi *Salmonella*, gejala yang terjadi adalah diare, kramperut, dan demam yang timbul 8-72 jam setelah mengkonsumsi pangan yang tercemar. Gejala lainnya adalah menggigil, sakit kepala, mual, dan muntah. Gejala dapat berlangsung selama lebih dari 7 hari.

Banyak orang dapat pulih tanpa pengobatan, tetapi infeksi *Salmonella* ini juga dapat membahayakan jiwa terutama pada anak-anak, orang lanjut usia, serta orang yang mengalami gangguan sistem kekebalan tubuh. Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroflora normal pada usus kebanyakan hewan berdarah panas. Bakteri ini tergolong bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, kebanyakan bersifat motil (dapat bergerak) menggunakan flagela, ada yang mempunyai kapsul, dapat menghasilkan gas dari glukosa dan dapat memfermentasi laktosa. Kebanyakan strain tidak bersifat membahayakan, tetapi ada pula yang bersifat patogen terhadap manusia, seperti *Enterohaemorragic Escherichia coli* (EHEC). *Escherichia coli* O157:H7 merupakan tipe EHEC yang terpenting dan berbahaya terkait dengan kesehatan masyarakat. Gejala penyakit yang disebabkan oleh EHEC adalah kram perut, diare (pada beberapa kasus dapat timbul diare berdarah), demam, mual dan muntah. Masa inkubasi berkisar 3-8 hari, sedangkan pada kasus sedang berkisar antara 3-4 hari (BPOM, 2004).

Di Indonesia beberapa jenis rumput laut dimanfaatkan sebagai obat-obatan, karena kurangnya penelitian terhardapat rumput laut di Indonesia pemanfaatannya sangat terbatas. Dari berbagai jenis rumput laut yang berada di seluruh dunia yang berkhasiat sebagai obat ternyata beberapa marga yang terdapat pada umumnya di Indonesia, marga-marga tersebut antara lain, *Acanthophora, Gracilaria, Galidium, Hypnea, Sargassum, Codium, Halimeda* dan *Ulva* (Admadja, 2004).

Alga *Sargassum* spp atau alga cokelat merupakan salah satu genus *Sargassum* spp yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. *Sargassum* spp mengandung bahan alginat dan iodin yang bermanfaat bagi industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Kadi, 2008). *Sargassum* spp memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba

terhadap beberapa jenis bakteri pathogen yang dapat menyebabkan diare. Diare adalah sebuah penyakit dimana penderita mengalami buang air besar yang sering dan masih memiliki kandungan air berlebihan (Sastry dan Rao, 1994).

Pengobatan diare dilakukan dengan pengobatan kausatif yaitu kuman penyebabnya dimatikan dengan bahan antibakteri. Hasil survei kesehatan rumah tangga antara lain menunjukkan bahwa penggunaan tumbuhan obat untuk mengobati diare pada anak balita sebesar 4% (Winarno dan Sundari, 1996). Menurut Muscthler (1991) penderita diare banyak menggunakan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia dan tanaman herbal, tetapi masih belum ada penelitian yang menjadikan salah satu sumber hayati laut seperti rumput laut untuk dijadikan salah satu alternatif pengobatan diare.

Peranan antioksidan sangat penting dalam meredam efek radikal bebas yang berkaitan erat dengan terjadinya penyakit degeneratif seperti tekanan darah tinggi, jantung koroner, diabetes dan kanker yang didasari oleh proses biokimiawi dalam tubuh. Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif (Helliwel,1999). Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi, oleh karena itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk menapis ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas dan juga memonitor fraksi bioaktif selama fraksinasi dan pemurnian (Meyer, 1982).

Pangan merupakan kebutuhan esensial bagi setiap manusia untuk pertumbuhan maupun mempertahankan hidup. Namun, dapat pula timbul penyakit yang disebabkan oleh pangan. Keracunan pangan atau *foodborne disease* (penyakit bawaan makanan), terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen masih menjadi masalah yang serius di berbagai negara termasuk

Indonesia. Reaksi radikal bebas secara umum dapat dihambat oleh antioksidan tertentu baik alami maupun sintetis. Sebagian besar antioksidan alami berasal dari tanaman, antara lain berupa senyawaan tokoferol, karatenoid, asam askorbat, fenol, dan flavonoid (Wang,1989). Salah satu upaya yang di lakukan adalah pemanfaatan dan penggunaan antibakteri secara alami dan informasi dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia telah menemukan adanya khasiat dari beberapa alga merah yang berpotensi sebagai antibakteri patogen, khusunya terhadap bakteri *Vibrio spp.*

Berdasarkan permasalahan di atas, maka dilakukan penelitian untuk menguji kemampuan rumput laut coklat atau *Sargassum* spp dalam menghasilkan senyawa antibakteri. *Sargassum* spp adalah bahan alam dari laut yang banyak mengandung bioaktif yang telah diketahui salah satunya sebagai antibakteri, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian pengaruh ekstrak *sargassum* spp yang di larutkan dengan heksan dan etil asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Pemnfaatan *Sargassum* spp masih memerlukan kajian yang meliputi :

- Mendapatkan konsentrasi berapa *Sargassum* spp dapat menghasilkan zona bening teluas terhadap *Salmonella typhii, Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.
- Senyawa bioaktif apa yang terkandung pada ekstrak heksan dan etil asetat *Sargassum* spp
- Identitas apa saja yang terdapat pada ekstrak heksan dan etil asetat *Sargassum* spp.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ekstrak heksan dan etil asetat dengan perbandingan 50 : 50 S*argassum* spp adalah sebagai berikut :

- Mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terkuat membentuk zona bening terhadap pertumbuhan *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.
- Mendapatkan senyawa – senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat yang menghambat *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.
- Mendapatkan identitas senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat yang menghambat *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

- Semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.
- Senyawa bioaktif dalam ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat berpotensi menghambat pertumbuhan *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.
- Terdapat senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat yang berpotensi menghambat *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini diharapkan :

- Memberikan informasi kepada masyarakat, petani tambak, pengusaha dan peneliti tentang kegunaan rumput laut coklat (*Sargassum* sp) dalammenghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhii, Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus.*
- Masyarakat dapat memanfaatkan rumput laut coklat (*Sargassum* spp) sebagai antibakteri alami yang potensial.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Parasit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mekatronika Fakultas Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Forensik Cabang Surabaya POLDA Jawa Timur Surabaya pada bulan April 2014 sampai Juni 2014.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum* spp

Rumput laut merupakan salah satu komoditi ekspor yang potensial untuk dikembangkan. Saat ini Indonesia merupakan negara eksportir rumput laut terbesar kedua setelah Filipina. Namun, rumput laut masih banyak yang diekspor dalam bentuk bahan mentah yaitu berupa rumput laut kering. Alga merupakan salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Selain dapat digunakan sebagai bahan makanan, minuman dan obat-obatan, beberapa hasil olahan alga seperti agar-agar, alginat dan karaginan merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri (Hijaz, 2009).

Menurut (Rachmat 1999) *Sargassum* merupakan alga coklat yang terdiri dari kurang lebih 400 jenis di dunia. Jenis-jenis *Sargassum sp* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies yaitu, *Sargassum duplicatum, S. histrix, S. echinocarpum, S. gracilimun, S. obtusifolium, S. binderi, S. policystum, S. crassifolium, S. microphylum, S. aquofilum, S. vulgare, dan S. polyceratium*.

Klasifikasi ganggang *Sargassum* spp adalah sebagai berikut :

Divisi : *Phaeophyta*

Kelas : *Phaeophyceae*

Sub kelas : *Cyclosporeae*

Bangsa : *Fucalles*

Suku : *Sargassaceae*

Marga : *Sargassum*

Jenis : *Sargassum* sp

Adapun *Sargassum* spp yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar dibawah ini :

Gambar 1. *Sargassum polycysum*

Gambar 2. *Sargassum echinocarphum*

Gambar 3. *Sargassum cristaefolium*

Menurut Kadi dan Atmadja (1988), spesies *Sargassum* spp merupakan salah satu rumput laut yang merupakan kekayaan hayati di Indonesia. *Sargassum* spp merupakan salah satu spesies yang tergolong ke dalam kelas *Phaeophyceae* yang mengandung auksin dan giberelin pada tiap gramnya menurut Montao danTupas (1990). Pada habitat aslinya, lebih dari 800 spesies *sargassum* tumbuh di perairan laut tropik dan sub tropik. Menurut Kadi dan Atmadja (1988), 12 Spesies diantaranya terdapat di Indonesia. *Sargassum* spp hidup di zona intertidal yang mengalami pasang surut air laut, dan zona sub litoral dengan melekat pada substrat keras melalui holdfast atau mengapung di permukaan air (Dawson, 1966). *Sargassum* spp dari segi morfologi menyerupai tumbuhan tingkat tinggi karena thallusnya dapat dibedakan akar, batang, dan daunnya. Spesies itu juga memiliki

holdfast berbentuk cakram, sebagai alat untuk melekat pada substrat. Terdapat cabang yang pada ujungnya terdapat gelembung udara, gelembung udara yang berukuran kecil, bulat, berdiameter antara 1,5 – 2 mm, menurut Notji (1987) bagian tersebut berfungsi sebagai alat pengapung di permukaan air jika holdfast terlepas dari substrat.

2.1.1 Deskripsi *Sargassum* spp

Maharani dan Widyanti (2010) menyatakan bahwa rumput laut jenis *Sargassum* spp umumnya merupakan tanaman perairan yang mempunyai warna coklat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat. Bagian atas tanaman menyerupai semak yang berbentuk simetris bilateral atau radial serta dilengkapi bagian sisi pertumbuhan. Umumnya rumput laut tumbuh secara liar dan masih belum dimanfaatkan secara baik. Rumput laut coklat memiliki pigmen yang memberikan warna coklat dan dapat menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa, fikoidin dan manitol yang komposisinya sangat tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuhnya.

2.1.2 Kandungan *Sargassum* spp

1. Senyawa Fenol

Fenol adalah senyawa dengan gugus OH yang terikat pada cicin aromatik. Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang memiliki ciri – ciri yang sama yaitu cicin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena sering berkaitan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987)

Kandung senyawa fenolik banyak diketahui sebagai terminator radikal bebas dan pada umumnya kandungan senyawa fenolik berkolerasi positif terhadap aktivitas antiradikal, sedangkan polifenol memiliki kemampuan untuk

berikatan dengan metabolit lain seperti protein, lemak dan karbohidrat membentuk senyawa kompleks yang stabil sehingga menghambat mutagenesis dan karsinogenesis. Selain itu, polifenol memiliki sifat antioksidatif dan antitumor (Mukhopadhiay,2000).

2. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia tanaman hasil metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran (Sirait, 2007). Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basah (adanya gugus amino) yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik (Harborne, 1987)

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa polifenolik yang biasa ditemukan secara luas dalam buah-buahan dan sayur-sayuran dari hampir semua tumbuhan dari bangsa alga. Senyawa terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, bunga, dan biji (Sastrohamidjojo, 1996). Flavonoid memberikan kontribusi dan kesemarakan pada buah-buahan di alam. Flavon memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warnah merah, ungu atau biru. Flavonid pada tumbuhan berfungsi dalam pengaturan tubuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus dan kerja terhadap serangga (Robinson, 1995).

Kandungan antioksidan pada rumput laut terutama berupa senyawa antioksidatif polifenol. Dari hasil penelitian isolasi senyawa polifenol dari rumput laut *Halimada* sp yang tergolong rumput laut coklat diperoleh bermacam-macam senyawa antara lain *catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, rutin, quertcitrin, hesperidin, myricetin, morin, luteolin, quercetin, apigeini, kaempferol* dan *baicalein* (Siriwardhana *et al.,* 2003).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi *flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonon* dan *kalokon.* Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain (Rohman dan Rianto, 2005).

2.2 Ekstraksi

Adapun prinsip dasar dari ekstaksi yaitu Penyaringan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Houghton dan Raman, 1998)

Proses ekstraksi terdiri dari tiga langkah besar, yaitu proses pencampuran, proses pembentukan fase setimbang dan proses pemisahan fase setimbang. Proses ekstraksi dapat berjalan dengan baik bila pelarut ideal harus memenuhi syarat-syarat yaitu selektivitasnya tinggi, memiliki perbedaan titik didih dengan solute cukup besar, bersifat inert, perbedaan density cukup besar, tidak beracun, tidak bereaksi secara kimia dengan solute maupun diluen, viskositasnya kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah terbakar, murah dan mudah didapat, beberapa faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi adalah temperatur, waktu kontak, perbandingan solute, faktor ukuran partikel, pengadukan dan waktu dekantasi (Yasita dan Rachmawati, 2009).

Menurut Simanjuntak (2008), Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ada beberapa metode ekstraksi, yaitu :

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama, dan seterusnya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

b. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu pada suhu 40-50^{o}C.

3. Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90^{o}C) selama 15 menit.

4. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90^{o}C selama 30 menit.

5. Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas saring) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu.

Faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi antara lain ukuran bahan, waktu kontak antara bahan dengan pelarut dan suhu ekstraksi. Faktor lain yang menentukan hasil ekstraksi adalah perbandingan antara sampel terhadap cairan pengekstraksi (jumlah bahan pengekstraksi) dan jangka waktu di mana sampel kontak dengan cairan pengekstraksi (waktu ekstraksi).

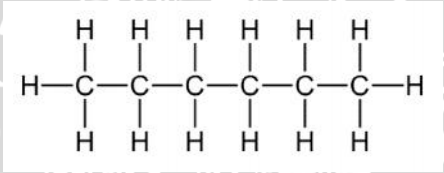
2.3 Pelarut

Konsetrasi jenuh larutan selama ekstraksi dipengaruhi oleh banyaknya pelarut yang akan digunakan, semakin banyak pelarut yang digunakan makin banyak zat terlarut yang terekstrak. Salah satu ciri penting pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat atau senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan / kutub dalam ruangan hampa dengan gaya yang bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut (Komara, 1991)

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : murah dan mudah diperoleh bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

2.3.1 Heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama *n*-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$). Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Seluruh isomer heksana amat tidak reaktif dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang inert. Heksana juga umum terdapat pada bensin dan lem sepatu, kulit dan tekstil. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air adapun rumus molekul dan rumus bangun heksan (Googleimage, 2014) seperti dibawah ini.



Heksana (C_6H_{14}) atau CH3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3 merupakan pelarut non polar yang tidak berwarna dan mudah menguap dengan titik didih 69 ^oC, pada T dan P normal berbentuk cair. Senyawa ini merupakan fraksi petroleum eter yang ditemukan oleh Castille da Henri. Secara umum Heksana merupakan senyawa dengan 6 rantai karbon lurus yang didapatkan dari gas alam dan minyak mentah. Heksana biasanya digunakan dalam pembuatan makanan termasuk ekstraksi dari minyak nabati.

Tabel 1. Karakteristik pelarut heksana

Karakteristik Pelarut Heksana	
Rumus molekul	C_6H_{14}
Massa molar	86,18 gr/mol
Densitas	0,6548 gr/ml
Titik leleh	−95 °C (178 K)
Titik didih	69 °C (342 K)
Viskositas	0,294 cP pada 25 °C

Sumber: (Wikipedia, 2014)

2.3.2 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus molekul $C_4H_8O_2$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Senyawa ini sering disingkat EtOAc, dengan Et mewakili gugus etil dan OAc mewakili asetat. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat merupakan penerima ikatan hidrogen yang lemah, dan bukan suatu donor ikatan hidrogen karena tidak adanya proton yang bersifat asam (yaitu hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif seperti flor, oksigen, dan nitrogen. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 3%, dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Namun, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam (Harborne, 1987)

Etil asetat disintesis melalui reaksi esterifikasi Fischer dari asam asetat dan etanol dan hasilnya beraroma jeruk (perisa sintesis), biasanya dalam sintesis disertai katalis asam seperti asam sulfat.

$$CH_3CH_2OH + CH_3COOH \rightarrow CH_3COOCH_2CH_3 + H_2O$$

Reaksi di atas merupakan reaksi reversibel dan menghasilkan suatu kesetimbangan kimia. Karena itu, rasio hasil dari reaksi di atas menjadi rendah jika air yang terbentuk tidak dipisahkan. Di laboratorium, produk etil asetat yang terbentuk dapat dipisahkan dari air dengan menggunakan aparatus Dean-Stark.

Etil asetat dapat dihidrolisis pada keadaan asam atau basa menghasilkan asam asetat dan etanol kembali. Katalis asam seperti asam sulfat dapat menghambat hidrolisis karena berlangsungnya reaksi kebalikan hidrolisis yaitu esterifikasi Fischer. Untuk memperoleh rasio hasil yang tinggi, biasanya digunakan basa kuat dengan proporsi stoikiometris, misalnya natrium hidroksida. Reaksi ini menghasilkan etanol dan natrium asetat, yang tidak dapat bereaksi lagi dengan etanol $CH_3CO_2C_2H_5 + NaOH \rightarrow C_2H_5OH + CH_3CO_2Na$ (Wikipedia, 2014)

2.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesisprotein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks dkk, 2005).

Mikroorganisme dapat dihambat atau dibunuh dengan proses fisik atau bahan kimia. Bahan antimikroba diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh mikroba.

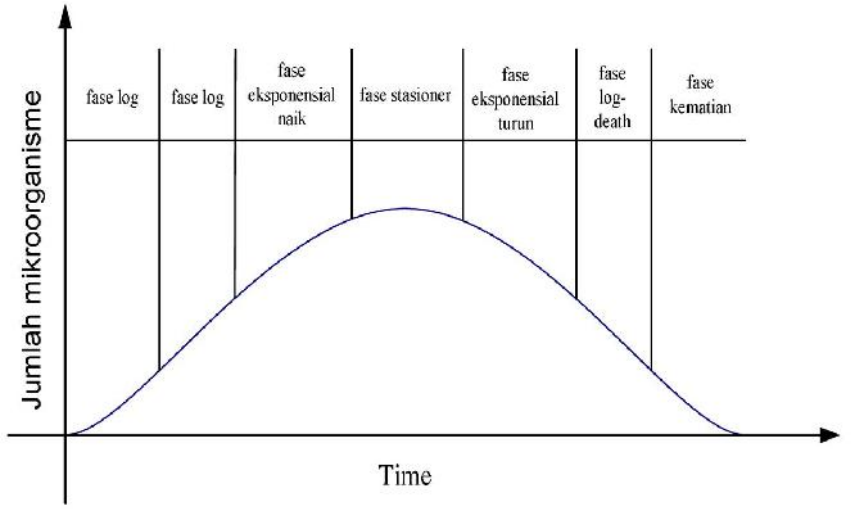
Apabila mikroorganisme yang dimaksud adalah bakteri, maka antimikroba lebih sering disebut dengan bahan antibakteri (Pelczar dan Chan, 1986). Komponen antimikroba adalah suatu komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (bakteristatik atau fungistatik) atau membunuh bakteri atau kapang (*bakterisidal* atau *fungisidal*). Zat aktif yangterkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan. Zat aktif tersebut dapat berasal dari bagian tumbuhan seperti biji, buah, rimpang, batang, daun, dan umbi (Ardiansyah, 2007).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening *(clear zone)* yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 105-108 CFU/mL (Hermawan dkk, 2007).

2.4.1 Pertumbuhan dan Perkembangbiakkan Bakteri

Istilah pertumbuhan umumnya digunakan untuk bakteri dan mikro organisme lain, biasanya pada pertambahan jumlah atau massa sel dan bukan perubahan individu organisme. Apabila bakteri dikembangbiakkan ke dalam suatu medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah yang amat tinggi dalam waktu yang relatif pendek (Pelezar dan Chan, 1986). Bakteri berkembang biak dengan jalan membelah diri1 (satu) menjadi 2 (dua), 2 (dua) menjadi 4 (empat) dan seterusnya. Interval waktu yang dibutuhkan bakteri untuk membelah diri berbeda antara yang satu dengan yang lainnya. Penambahan dan pertumbuhan jumlah sel mikroba pada umumnya dapat digambarkan dalam bentuk kurva

pertumbuhan. Kurva pertumbuhan merupakan penjabaran dari penambahan jumlah sel dalam waktu tertentu.



Gambar 4. Fase Pertumbuhan Bakteri

Kurva di atas disebut sebagai kurva pertumbuhan bakteri. Ada empat fase pada pertumbuhan bakteri sebagaimana tampak pada kurva, yaitu (Suriawiria, 1989 dalam Lathifah, 2008), adalah sebagai berikut :

- Fase Lag/Adaptasi

Fase ini merupakan perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu tidak secara nyata terlihat.Fase ini dapat dinamakan sebagai fase adaptasi (penyesuaian) atau fase pengaturan jasad untuk suatu aktivitas di dalam lingkungan yang mungkin baru.

- Fase Log/Eksponensial

Fase ini jasad mulai mengadakan perubahan bentuk dan meningkatkan jumlah sel sehingga kurva meningkat dengan tajam. Peningkatan ini dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor biologi (bentuk dan sifat jasad terhadap lingkungan yang ada) dan faktor non-biologi (kandungan sumber nutrient di dalam media, temperatur cahaya dan lain-lain).

- Fase Stasioner

Fase yang menunjukkan puncak aktivitas pertumbuhan pada titik yang tidak dapat dilampaui lagi, sehingga pada fase ini gambaran grafik akan mendatar.

- Fase Kematian

Fase ini jumlah individu secara tajam akan menurun sehingga grafik tampaknya akan kembali ke titik awal.

2.4.2 Mekanisme Antibakteri

Menurut Widyarto (2009), mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam lima kelompok :

1. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteriostatik. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat dan sulfon. Kerja antibakteri ini adalah menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensistesis sendiri dari asam para amino benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat. Sedangkan trimetoprim bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase.

2. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, sintesis peptidoglikan akan dihalangi oleh adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, sikloserin. Sikloserin akan menghambat reaksi paling dini dalam proses sintesis dinding sel sedang yang lainnya menghambat di akhir sintesis petidoglikan, sehingga mengakibatkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan tidak mempertahankan pertumbuhan sel secara normal, sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi dari pada tekanan di luar sel maka

kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka.

3. Antibakteri yang mengganggu membran sel bakteri

Sitoplasma dibatasi oleh membran sitoplasma yang merupakan penghalang dengan permeabilitas yang selektif. Membran sitoplasma akan mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Jika terjadi kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

4. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Kehidupan sel bakteri tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asama nukleat dalam keadaan alamiah. Jika kondisi atau substansi yang dapat mengakibatkan terdenaturasinya protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) yang bersifat irreversible terhadap komponen-komponen seluler yang vital ini.

5. Antibakteri yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri

Protein, DNA, dan RNA berperan penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri. Apabila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa terpenoid diduga senyawa terpenoid akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya substansi akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Gunawan, 2008).

2.5 Senyawa Bioaktif

Bioaktif adalah zat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat kesehatan dalam tubuh. Ditinjau secara biologi, alga merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Alga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif (Simanjuntak, 1995).

Banyaknya senyawa bioaktif dari alga dapat digunakan sebagai sumber bahan obat-obatan. Alga hijau, alga merah ataupun alga coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi seperti sebagai anti bakteri dan anti kanker. Selain itu, dalam industri agrokimia juga dapat dimanfaatkan untuk fungisida dan herbisida. Kemampuan alga untuk memproduksi metabolit sekunder terhalogenasi yang bersifat sebagai senyawa bioaktif dimungkinkan terjadi karena kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrem seperti salinitas yang tinggi atau akan digunakan untuk mempertahankan diri dari ancaman predator. Namun pemanfaatan sumber bahan bioaktif dari alga belum banyak dilakukan (Eri, 2007).

2.5.1 Uji Alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dengan 10 tetes H_2SO_4 2N, kemudian diuji dengan pereaksi wagner dan marquis. Pereaksi wagner dibuat dengan cara 10 ml aquades dipipet kemudian ditambahkan 2,5 gram iodine dan 2 gram KI lalu dilarutkan dan diencerkan dengan aquades menjadi 200 ml. Pereaksi marquis dibuat dengan cara 1 ml formalin 40% ditambah 5 ml H_2SO_4p.a (McMurry and Fay, 2004). Hasil uji dinyatakan positif bila pereaksi wagner terdapat endapan coklat sampai kuning, untuk pereaksi marquis dinyatakan positif jika terbentuk warna ungu anggur, merah atau coklat.

2.5.2 Uji Steroid dan Terpenoid

Wagner (1984) mengatakan bahwa senyawa terpenoid dapat dideteksi dengan pereaksi vanilin asam sulfat dengan mekanisme abstraksi H+ sehingga terbentuk senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Ikatan rangkap dua pada struktur kimia terpenoid memiliki spektrum serapan pada sinar ultraviolet dan sinar visibel, sehingga deteksi didaerah cahaya tampak terlihat berwarna violet (Wagner, 1984).

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yangkuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering, lalu ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 2 tetes H2SO4 pekat. Terbentuknya larutan berwarna jingga dan ungu menandakan adanya senyawa triterpenoid, kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan adanya senyawa steroid.

2.5.3 Uji Flavonoid

Adapun mekanisme flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri 26,27 sementara Mirzoeva *et al.*, (1997) dalam penelitiannya mendapatkan bahwa flavonoid mampu melepaskan energi tranduksi terhadap membrane sitoplasma bakteri selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Di Carlo *et al.*,

(1999) dan Estrela *et al.*, (1995) yang menyatakan bahwa gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.

Adapun cara pengujiannya yaitu sejumlah sampel ditambahkan air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 ml HCL p.a, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

2.5.4 Uji Saponin

Mekanisme kerja saponin sebagai antibaktei adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995). Sejumlah sampel ditambahkan air panas, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan HCl p.a. Uji positif ditunjukkan adanya busa permanen +15 menit.

Penentuan aktivitas antimikroba suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan bila terpenuhi tiga syarat, yaitu (1) ekstrak tanaman harus bisa kontak dengan dinding sel mikroorganisme, (2) kondisi pengujian diatur sedemikian rupa sehingga mikroorganisme dapat tumbuh saat tidak ada bahan antimikroba dan (3) ada parameter ukur tingkat pertumbuhan mikroorganisme (Hostettmann, 1991). Banyak metode yang dapat diterapkan untuk menentukan aktivitas antimikroba dimana masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan.

Uji antibakteri dapat dilakukan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri Menurut Brock and Madigan (1991) terdapat 3 metode yang umum digunakan dalam uji antibakteri, yaitu metode dilusi kaldu, metode dilusi agar, dan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas).

Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona penghambatan dan harus dikontrol adalah (Greenwood, 1995 dalam Pratama, 2005) adalah sebagai berikut :

a. Konsentrasi mikroba pada permukaan medium. Semakin tinggi konsentrasi mikroba maka zona penghambatan akan semakin kecil.
b. Kedalaman medium pada cawan petri. Semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan akan semakin kecil.
c. Nilai pH dari medium, beberapa antibiotika bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa kondisi alkali/basa.
d. Kondisi aerob/anaerob. Beberapa antibakterial kerja terbaiknya pada kondisi aerob dan yang lainnya pada kondisi anaerob.

Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhuan Bakteri

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20 mm	Sangat kuat
16 – 20 mm	Kuat
10 – 15 mm	Sedang
< 10 mm	Lemah

Sumber : Davis Stout (2000).

Davis Stout dalam Ardiansyah (2005) mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut, daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.

2.6 *Salmonella typhii*

Salmonella tyhpii merupakan bakteri batang gram-negatif. Karena habitat aslinya yang berada di dalam usus manusia maupun binatang, bakteri ini dikelompokkan ke dalam *enterobacteriaceae* (Brooks, 2005).

Adapun Klasifikasi *Salmonella typhii* adalah sebagai berikut :

Phylum : Eubacteria

Class : Prateobacteria

Ordo : Eubacteriales

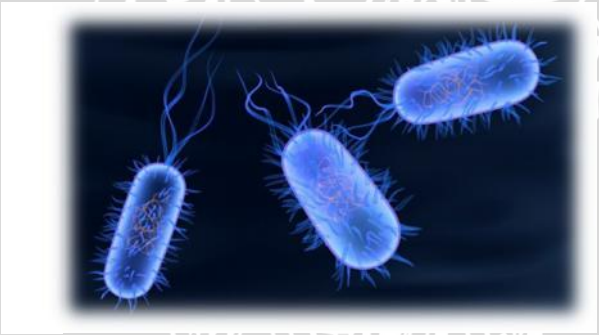
Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Salmonella*

Species : *Salmonella enterica*

Subspesies : *enteric* (I)

Serotipe : *typhii*



Gambar 5. Bakteri *Salmonella thypii* (Googleimage, 2014)

Klasifikasi *Salmonella typhii* terbentuk berdasarkan dasar epidemiologi, jenis inang, reaksi biokimia, dan struktur antigen O, H, V ataupun K. Antigen yang paling umum digunakan untuk *Salmonella typhii* adalah antigen O dan H. Antigen O, berasal dari bahasa Jerman (Ohne), merupakan susunan senyawa lipopolisakarida (LPS). LPS mempunyai tiga region. *Region* I merupakan antigen O-spesifik atau antigen dinding sel. Antigen ini terdiri dari unit-unit oligosakarida yang terdiri dari tiga sampai empat monosakarida.

Polimer ini biasanya berbeda antara satu isolat dengan isolat lainnya, itulah sebabnya antigen ini dapat digunakan untuk menentukan subgrup secara serologis. *Region* II merupakan bagian yang melekat pada antigen O, merupakan *core polysaccharide* yang konstan pada genus tertentu. *Region* III adalah *lipid* A yang melekat pada *region* II dengan ikatan dari 2-keto-3-deoksioktonat (KDO). *Lipid* A ini memiliki unit dasar yang merupakan disakarida yang menempel pada lima atau enam asam lemak. Bisa dikatakan *lipid* A melekatkan LPS ke lapisan *murein-lipoprotein* dinding sel (Dzen, 2003).

2.6.1 Struktur Antigen

Salmonella typhii mempunyai tiga macam antigen utama untuk diagnostik atau mengidentifikasi yaitu somatik antigen (O), antigen flagel (H) dan antigen Vi (kasul). Namun antigen O kurang imunogenik dan aglutinasi berlangsung lambat. Maka kurang bagus untuk pemeriksaan serologi karena terdapat 67 faktor antigen, tiap-tiap spesies memiliki beberapa faktor. Oleh karena itu titer antibodi O sesudah infeksi lebih rendah dari pada antibodi H (Todar, 2008).

2.6.1 Sifat Biokimia

Salmonella typhii bersifat aerob dan anaerob falkultatif, pertumbuhan *Salmonella typhii* pada suhu 37ºC dan pada pH 6-8. *Salmonella typhii* memiliki flagel jadi pada uji motilitas hasilnya positif, pada media BAP (*Blood Agar Plate*) menyebabkan hemolisis. Pada media MC (*Mac Conkay*) tidak memfermentasi laktosa atau disebut *Non Laktosa Fermenter* (NLF) tapi *Salmonella typhii* memfermentasi glukosa, manitol dan maltosa disertai pembentukan asam dan gas kecuali *S. typhi* yang tidak menghasikkan gas. Kemudian pada media indol negatif, MR positif, Vp negatif dan sitrat kemungkinan positif. Tidak menghidrolisiskan urea dan menghasilkan H2S (Julius, 1990).

2.7 *Escherichia coli*

2.7.1 Klasifikasi Bakteri *E. coli*

Adapun Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Prokaryota*

Divisio : *Gracilicutes*

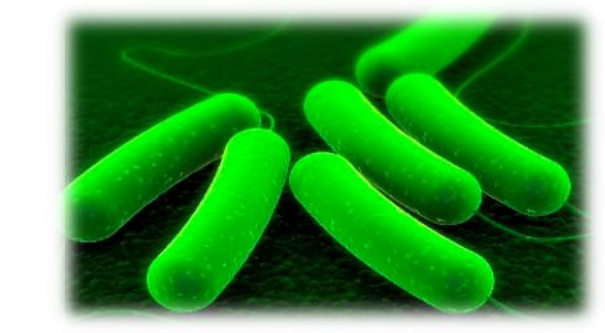
Class : *Scotobacteria*

Ordo : *Eubacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : *E. coli*



Gambar 6. *Escherichia coli* (Googleimage, 2014)

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motilaktif dan tidak membentuk spora. Pembiakkan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu 37ºC. *Escherichia coli* mempunyai beberapa antigen yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sellipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak dikapsul (Juliantina dkk,2008).

2.7.2 Manfaat dan Patogenesitas

E. coli adalah anggota flora normal usus *E.coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat oganik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik yaitu CO_2, H_2O, energy dan mineral. Di dalam lingkungan bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

E. coli menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan atau berada di luar usus *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare *E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (jawetz *et al.,* 1995).

2.8 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 ºC tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 ºC). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi. Bakteri *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler (Jawetz *et al.,* 1995).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut ;

Divisio : Protophyta

Class : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Stapylococcus aureus*

Gambar 7. *Stapylococcus aureus* (Googleimage, 2014)

*Stapylococcus aure*us adalah bakteri gram positif, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, serta tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi, misalnya NaCl 10%.

Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, contohnya :

1. Katalase

Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivtias katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus* (Brooks *et al.,* 1995).

2. Koagulase

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut.Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan,

sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis (Warsa, 1994).

3. Hemolisin

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *S. aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisisn, dan delta hemolisisn.Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemoli sis di sekitar koloni *S. aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan Stafilokokus yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba (Warsa, 1994).

4. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan, tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena Stafilokokus patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat di fagositosis (Jawetz *et al.*, 1995).

5. Toksin eksfoliatif

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matrik smukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepithelial pada ikatan sel di stratum granulosum.Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* yang ditandai dengan melepuhnya kulit (Warsa,1994).

6. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *S. aureus* yang diisolasi dari penderita sindromsyoktoksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit dan gangguan multi sistem organ dalam tubuh (Jawetz *et al*., 1995).

7. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa didalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz *et al*., 1995).

3 METODELOGI

3.1 Alat– Alat

Adapun alat-alat yang digunakan dalam ektraksi senyawa antibakteri rumput laut adalah corong, botol plastik, gelas ukur, spatula, *vacum rotary evaporator*, neraca analitik dan botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji cakram antara lain autoclave, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikro pipet, jarum ose, cawan petri, waterbath, inkubator, pinset, triangle, bunsen, korek api dan vortex mixer, sedengakan peralatan yang digunakan untuk kultur bakteri yaitu erlemeyer, pipet volume 0,1 ml dan autoclave. Untuk identifikasi kandungan senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak rumput laut yaitu menggunakan 1 unit GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*), tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan digital, pipet tetes, dan pipet volume.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi dua macam yaitu bahan utama dan bahan tambahan. Bahan utama yaitu berupa *Sargassum* spp yang nantinya akan diekstraksi untuk didapatkan senyawa aktifnya. *Sargassum* spp ini yang didapatkan dari Kabupaten Sumenep, Madura. *Sargassum* spp yang di dapatkan di Pulau ini cukup jauh dari kawasan perkotaan dan hidup di air laut dengan kedalaman antara 2 sampai 3 meter dari permukaan. Selain itu, bahan yang di gunakan yaitu bakteri *Salmonella typhii, Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bahan-bahan penunjang lain yang digunakan berupa pelarut methanol, aseton, heksan dan etil asetat dan aquades.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk mencapai tujuan utama yaitu mengetahui daya hambat ekstrak rumput laut *Sargassum* spp dengan campuran pelarut dengan perbandingan 50 : 50 antara heksan dan etil asetat terhadap *Salmonella typhii, Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Menurut Surakhmad (1984), metode deskriptif merupakan metode penyelidikan yang menuturkan dan mengklasifikasikan data yang diperoleh dari berbagai teknik pengambilan data. Tujuan dari pelaksanaan metode deskriptif adalah untuk memaparkan secara sistematik, faktual, dan akurat mengenai fakta serta sifat dari suatu populasi tertentu. Pengumpulan data sesuai dengan tujuan dan secara rasional kesimpulan diambil dari data yang berhasil dikumpulkan.

Metode deskriptif merupakan metode yang menggambarkan dan menginterpretasi objek sesuai dengan apa adanya. Penelitian deskriptif ini juga sering disebut noneksperimen, karena pada penelitian ini peneliti tidak melakukan kontrol dan manipulasi variabel penelitian (Hartoto, 2009 dalam Fadhli, 2011). Dengan penelitian metode deskriptif, memungkinkan peneliti untuk melakukan hubungan antar variabel, menguji hipotesis, mengembangkan generalisasi, dan mengembangkan teori yang memiliki validitas universal (West, 1982 dalam Ridwan, 2012).

Sampel dalam penelitian ini merupakan perlakuan terbaik dari hasil penelitian. Instrumen yang dipakai adalah instrument yang berada di Laboratorium Forensik Cabang Surabaya. GC-MS *Hewlett Packard 5890 Series II*, dengan kolom kapiler Hp 5-MS (50 m, 0,2 mm, 0,33 m); 2) *Agilent Gold Standard Syringe* 5 µl.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi *Sargassum* spp

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat atau beberapa dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen tersebut (Sjahid, 2008).

Dinda (2008) mengatakan bahwa, Ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu cara dingin dan cara panas. Ekstraksi dengan pelarut cara dingin yaitu melalui proses maserasi dan perkolasi, maserasi yaitu proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar, metode maserasi digunakan untuk menyaring simplis yang mengandung komponen kiam yang mudah larut dalam cairan penyaring, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin.

Penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar , terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Harbone, 1987).

Sampel dicuci dengan air bersih, lalu dilakukan pengecilan ukuran kemudian dikeringkan dengan panas matahari sampai kering. Selanjutnya *Sargassum* spp yang sudah kering dihancurkan dengan mesin penggiling untuk memperluas permukaan bidang dan kemuadian diayak menggunakan ayakan ukuran 40 mesh.

Selanjutnya bubuk *Sargassum* spp diekstraksi mengunakan metode maserasi yaitu dengan cara perendaman menggunakan bahan kimia aseton pro analisis dengan perbandingan 1 : 3 (50 gram : 150 mL) selama 24 jam. Setelah itu disaring dengan menggunakan corong yang telah dilapisi kertas saring *whatman* ukuran 1 hingga diperoleh filtrat. Menurut Voight (1994), proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Pada fase pencucian terjadi penyatuan cairan ekstraksi melalui rusaknya sel-sel zat yang diekstrak atau terusakkan dengan operasi penghalusan langsung kontak dengan bahan pelarut. Diharapkan komponen sel yang terdapat dalam sel lebih mudah dicuci atau diambil, sedangkan yang dimaksud dengan fase ekstraksi, peristiwanya lebih kompleks yaitu suatu peristiwa yang memungkinkan terjadinya perlintasan bahan pelarut ke bagian dalam sel. Dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel akan menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai kelarutannya. Zat tersebut pindah sejauh mereka terlarut molekuler, mengikuti difusi melalui ruang antar miselar.

Kemudian filtrat yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengentalan dengan cara memisahkan pelarut ekstrak dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40^{o}C agar pelarut dapat terpisah tanpa merusak senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp. Selanjutnya ekstrak ditampung dalam botol vial sehingga diperoleh ekstrak kasar *Sargassum spp* yang bebas dari pelarut. Kemudian ekstrak dilarutkan dengan antibiotik pada konsentrasi berbeda yakni 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm. Selanjutnya dimasukkan dalam kulkas sehingga didapatkan ekstrak dari *Sargassum* spp.

3.4.2 Maserasi

Maserasi adalah salah satu jenis metoda ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin, jadi pada metoda ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali. Sehingga maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas. Namun biasanya maserasi digunakan untuk mengekstrak senyawa yang tidak tahan panas (termolabil) atau senyawa yang belum diketahui sifatnya. Karena metoda ini membutuhkan pelarut yang banyak dan waktu yang lama. Secara sederhana, maserasi dapat kita sebut metoda “perendaman” karena memang proses ekstraksi dilakukan dengan hanya merendam sample tanpa mengalami proses lain kecuali pengocokan (bila diperlukan). Prinsip penarikan (ekstraksi) senyawa dari sample adalah dengan adanya gerak kinetik dari pelarut, dimana pelarut akan selalu bergerak pada suhu kamar walaupun tanpa pengocokan. Namun untuk mempercepat proses biasanya dilakukan pengocokan secara berkala (Harborne,1987). Sedangkan menurut Darwis (2000), ada beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan, antara lain:

1. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pengekstrak yang digunakan.

2. Sokletasi

Proses sokletasi sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas. Penggunaan pengekstrak dalam proses ini akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pengekstrak yang selalu membasahi sampel.

3. Destilasi uap

Proses destilasi uap banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu cukup tinggi, yaitu yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan. Pada umumnya lebih banyak digunakan untuk minyak atsiri.

4. Pengempasan

Metode ini banyak digunakan dalam proses industri seperti pada isolasi senyawa dari buah kelapa sawit dan isolasi katekin dari daun gambir. Proses ini tidak menggunakan pelarut.

3.4.3 Uji Cakram

Langkah awal yang dilakukan pada uji cakram yaitu menyiapkan media pertumbuhan bakteri uji. Media yang digunakan adalah media cair yaitu NB (*nutrient broth*) dan media padat MHA.

Kertas cakram direndam dalam zat antimikroba dari ekstrak dengan berbagai konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm, dan 15.000 ppm selama ± 30 menit. Kemudian kertas cakram yang telah direndam dalam zat antimikroba ditempelkan diatas agar MHA yang telah disentrik bakteri yang akan diuji. Kemudian diinkubasi pada suhu 27^{o}C di dalam inkubator selama 24 jam. Setelah itu diamati dan diukur zona hambat yang terdapat pada masing-masing cakram. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan jangka sorong.

3.5 Senyawa Bioaktif *Sargassum* spp

3.5.1 Uji Fitokimia

Adapun Uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dengan :

1. Uji Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan yang merupakan senyawa turunan yang mengandung unsur nitrogen (umumnya dalam cincin) yang terdapat pada mahluk hidup. Prinsip pada uji ini sampel yang akan dilihat kandungan alkaloidnya terlebih dahulu digerus. Proses penggerusan ini bertujuan untuk menghancurkan dinding sel yang sifatnya kaku sehingga senyawa target (metabolit sekunder) yang berada dalam vakuola mudah untuk diambil dan ditambahkan asam sulfat 2 N yang bertujuan untuk mengikat kembali alkaloid menjadi garam alkaloid agar dapat bereaksi dengan pereaksi-pereaksi logam yang spesifik untuk alkaloid yang menghasilkan kompleks garam anorganik yang tidak larut sehingga terpisah dengan metabolit sekunder lainnya

Sejumlah sampel dilarutkan dengan 10 tetes H2SO4 2N, kemudian diuji dengan pereaksi wagner dan marquis. Pereaksi wagner dibuat dengan cara 10 ml aquades dipipet kemudian ditambahkan 2,5 gram iodine dan 2 gram KI lalu dilarutkan dan diencerkan dengan aquades menjadi 200 ml. Pereaksi marquis dibuat dengan cara 1 ml formalin 40% ditambah 5 ml H2SO4p.a (McMurry and Fay, 2004). Hasil uji dinyatakan positif bila pereaksi wagner terdapat endapan coklat sampai kuning, untuk pereaksi marquis dinyatakan positif jika terbentuk warna ungu anggur, merah atau coklat.

2. Uji Steroid dan Triterpenoid

Prisinp kerja uji ini yaitu Pembentukan isoprena aktif berasal dari asam asetat melalui asam mevalonat, penggabungan kepala dan ekor unit isoprene akan membentuk mono-, seskui-, di-, sester-, dan poli-terpenoid dan penggabungan ekor dan ekor dari unit C-15 atau C-20 menghasilkan triterpenoid dan steroidSejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering, lalu ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 2 tetes H2SO4 pekat. Terbentuknya larutan berwarna jingga dan ungu menandakan adanya senyawa triterpenoid, kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan adanya senyawa steroid.

3. Uji Flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 ml HCL p.a, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

4. Uji Saponin

Sejumlah sampel ditambahkan air panas, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan HCl p.a. Uji positif ditunjukkan adanya busa permanen +15 menit.

3.5.2 Uji GC-MS

Adapun prinsip kerja Cromatografy Mass Spectrometry (GCMS) adalah sebagai berikut :

1. Kromatografi Gas (*Gas Chromatography)*

Kromatografi gas (GC) merupakan jenis kromatografi yang digunakan dalam kimia organik untuk pemisahan dan analisis. GC dapat digunakan untuk menguji kemurnian dari bahan tertentu, atau memisahkan berbagai komponen dari campuran. Dalam beberapa situasi, GC dapat membantu dalam mengidentifikasi sebuah senyawa kompleks.

Dalam kromatografi gas, fase yang bergerak (atau "mobile phase") adalah sebuah operator gas, yang biasanya gas murni seperti helium atau yang tidak reactive seperti gas nitrogen. *Stationary* atau fasa diam merupakan tahap mikroskopis lapisan cair atau polimer yang mendukung gas murni, di dalam bagian dari sistem pipa-pipa kaca atau logam yang disebut kolom. Instrumen yang digunakan untuk melakukan kromatografi gas disebut gas chromatograph (atau "aerograph", "gas pemisah").

2. Spektroskopi Massa (*Mass Spectrometry)*

Umumnya spektrum massa diperoleh dengan mengubah senyawa suatu sample menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan. Spektroskopi massa mampu menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilah ion tersebut menjadi spektum yang sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan dan merekam kelimpahan relatif tiap jenis ion yang ada. Umumnya hanya ion positif yang dipelajari karena ion negative yang dihasilkan dari sumber tumbukan umumnya sedikit.

3. Kombinasi GCMS

Saat GC dikombinasikan dengan MS, akan didapatkan sebuah metode analisis yang sangat bagus. Peneliti dapat menganalisis larutan organik, memasukkannya ke dalam instrumen, memisahkannya menjadi komponen tinggal dan langsung mengidentifikasi larutan tersebut. Selanjutnya, peneliti dapat menghitung analisa kuantitatif dari masing-masing komponen. Pada Gambar 4, sumbu z menyatakan kelimpahan senyawa, sumbu x menyatakan spektrum kromatografi, dan sumbu y menyatakan spektrum spektroskopi massa. Untuk menghitung masing-masing metode dapat divisualisasikan ke dalam grafik dua dimensi.

4. Metode Analisis *Cromatografy Mass Spectrometry* (GCMS)

Pada metode analisis GCMS (Gas Cromatografy Mass Spektroscopy) adalah dengan membaca spektra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut. Pada spektra GC jika terdapat bahwa dari sampel mengandung banyak senyawa, yaitu terlihat dari banyaknya puncak (*peak*) dalam spektra GC tersebut. Berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa apa saja yang ada dalam sampel.

Selanjutnya adalah dengan memasukkan senyawa yang diduga tersebut ke dalam instrumen spektroskopi massa. Hal ini dapat dilakukan karena salah satu kegunaan dari kromatografi gas adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa dari suatu sampel. Setelah itu, didapat hasil dari spektra spektroskopi massa pada grafik yang berbeda. Informasi yang diperoleh dari kedua teknik ini yang digabung dalam instrumen GC/MS adalah tak lain hasil dari masing-masing spektra. Untuk spektra GC, informasi terpenting yang didapat adalah waktu retensi untuk tiap-tiap senyawa dalam sampel. Sedangkan untuk spektra MS, bisa diperoleh informasi mengenai massa molekul relatif dari senyawa sampel tersbut. Tahap-tahap suatu rancangan penelitian GC/MS, Sample preparation, derivatisation.

5. Injeksi

Menginjeksikan campuran larutan ke kolom GC lewat heated injection port. GC/MS kurang cocok untuk analisa senyawa labil pada suhu tinggi karena akan terdekomposisi pada awal pemisahan.

6. GC separation

Campuran dibawa gas pembawa (biasanya Helium) dengan laju alir tertentu melewati kolom GC yang dipanaskan dalam pemanas. Kolom GC memiliki cairan pelapis (fasa diam) yang inert.

7. MS detector

Aspek kualitatif, lebih dari 275.000 spektra massa dari senyawa yang tidak diketahui dapat teridentifikasi dengan referensi komputerisasi. Aspek kuantitatif, dengan membandingkan kurva standar dari senyawa yang diketahui dapat diketahui kuantitas dari senyawa yang tidak diketahui.

8. Scanning

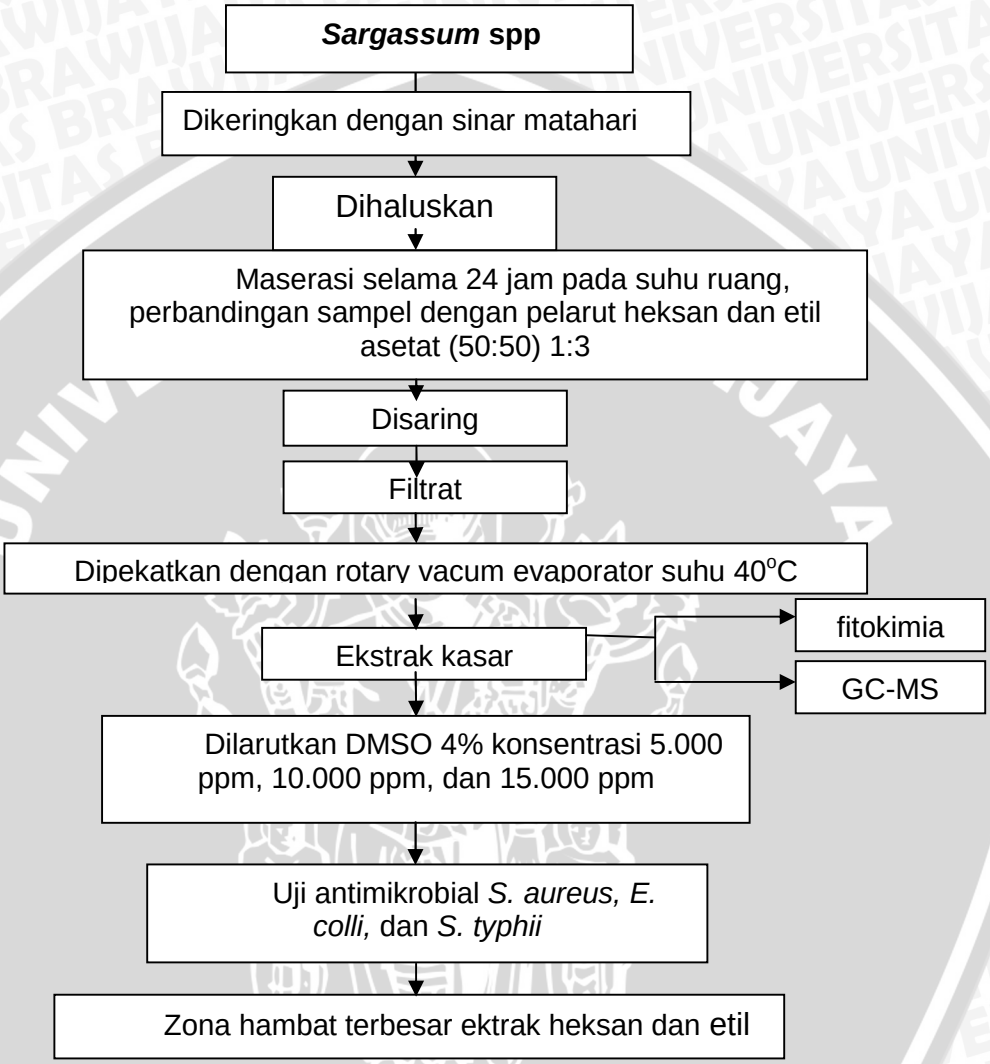
Spektra massa dicatat secara reguler dalam interval 0,5-1 detik selama pemisahan GC dan disimpan dalam sistem instrumen data untuk digunakan dalam analisis. Spektra massa berupa fingerprint ini dapat dibandingkan dengan acuan.

Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. GC-MS terdiri dari dua blok bangunan utama : kromatografi gas dan spektromater massa. Proses GC-MS dilakukan dengan isolat warna orange dan isolat yang warna kuning kehijauan, dengan menggunakan alat GC-MS tipe Shimadzu QP2010S.

Fungsi dari kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif senyawa dalam suatu campuran (Fowlis, 1998).

Selanjutnya dilakukan uji GC-MS *(Gas Chromatography-Mass Spectrometry)* GC-17A *Agilent 5890 series II Plus*. Injeksi sampel dalam mode split ke dalam kolom kapiler Hp 5-MS (50 m, 0,2 mm, 0,33 µm). Gas pembawa laju alir adalah Helium(He) 0,7 ml/min. Suhu injektor GC ditetapkan 295 ˚C. Program suhu oven ditetapkan 70 ˚C selama 2 menit dan kemudian meningkat sebesar 10 ˚C/menit samapai 295 ˚C 28 min.

Adapun skema kerja daya hambat ekstrak rumput laut *Sargassum* spp terhadap penghambatan bakteri *Salmonella typhii, Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 7.

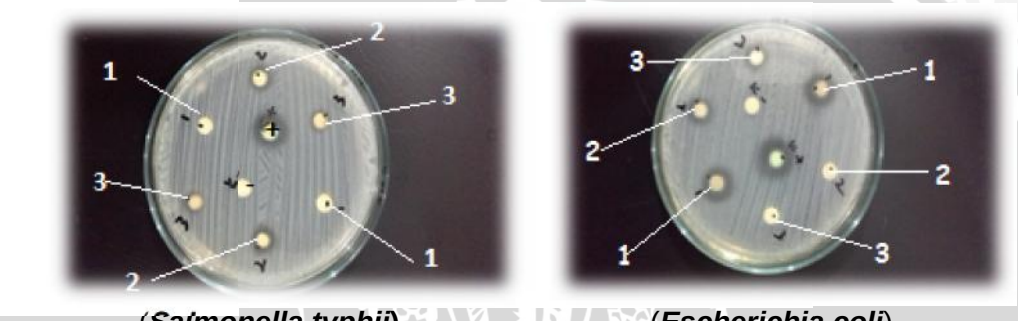


Gambar 8. Skema kerja daya hambat ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap *S. aureus, E. colli*, dan *S. typhii*

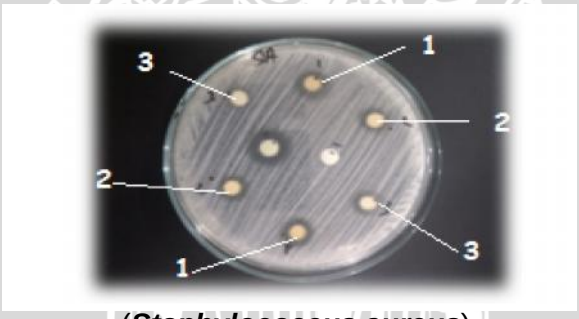
4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (uji cakram)

Adapun hasil uji bakteri dan hasil pengukuran zona hambat pengaruh ekstrak rumput laut *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat dengan perbandingan 50 : 50 terhadap bakteri dapat dilihat pada Gambar 9 dan 10 di bawah ini.



(***Salmonella typhii***) (***Escherichia coli***)



(***Staphylococcus aureus***)

Keterangan gambar :

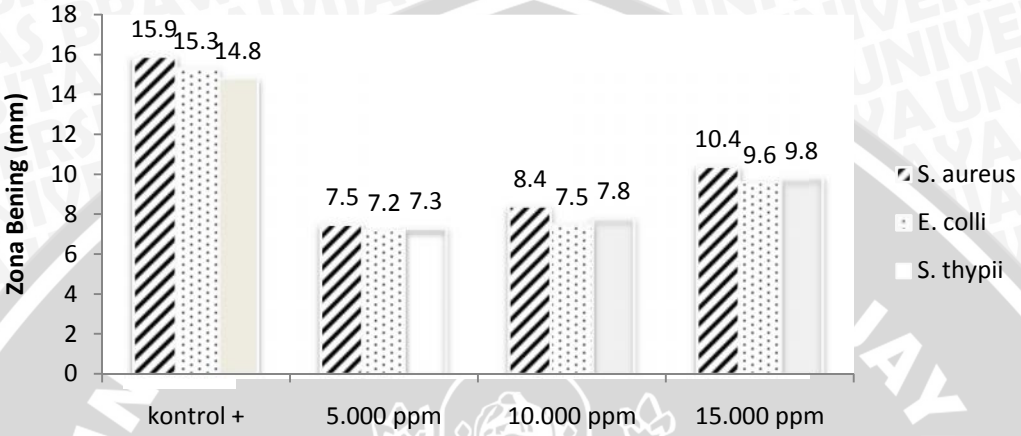
(1) konsentrasi 15.000 ppm **(+) kontrol positif : tetrasiklin**

(2) konsentrasi 10.000 ppm **(-) kontrol negatif : DMSO 4**

(3) konsentrasi 5.000 ppm

Gambar 9. Hasil uji antibakteri ektrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap *S. aureus, E. coli,* dan *S. typhii*

Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).



Gambar 10. Zona bening *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terhadap *S. aureus, E. coli,* dan *S. typhii*

Pada gambar 9 memperlihatkan bahwa konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp yang efektif menghambat *S. aureus* adalah pada konsentrasi 15.000 ppm yang menghasilkan zona hambat sebesar 10,4 mm. Kontrol positif terhadap *S. aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 15,9 mm. Konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp yang efektif menghambat *E.coli* adalah pada konsentrasi 15.000 ppm yang menghasilkan zona hambat sebesar 9,6 mm. Kontrol positif terhadap *E.coli* menghasilkan zona hambat sebesar 15,3 mm. Sedangkan untuk konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp yang efektif menghambat*S. thypi* adalah pada konsentrasi 15.000 ppm yang menghasilkan zona hambat sebesar 9,8 mm. Kontrol positif terhadap *E.coli* menghasilkan zona hambat sebesar 14,8 mm.

Pada *E.coli, S. aureus* dan *S. typhii* mempunyai zona hambat yang efektif pada konsetrasi 15.000 ppm, hal ini diduga karena semakin tinggi konsentrasi berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan

pernyataan Pelczar dan Chan (1986), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri makan aktivitas antibakterinya semakin kuat pula.

Pada *S. aureus* mempunyai zona hambat yang lebih besar dari pada *S. thypi* dan *E.coli,* hal ini disebabkan*S. thypi* dan *E.coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki sifat kurang sensitif terhadap komponen antibakteri. Menurut Pelczar dan Chan (1986), struktur penyusun dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida sehingga mempersulit senyawa antibakteri masuk kedalam selnya dan menyebabkan zona bening yang dihasilkan lebih kecil jika dibandingkan dengan zona bening yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang merupakan bakteri gram positif.

Diameter zona hambat antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp dapat dibandingkan dengan diameter zona hambat antibakteri kontrol positif dimana dalam hal ini menggunakan antibiotik tetrasiklin. Tetrasiklin merupakan kelompok antibiotika yang dihasilkan oleh*Streptomyces aureofaciens* atau *S. rimosus*. Tetrasiklin merupakan derivat dari senyawa hidronaftalen dan berwarna kuning. Tetrasiklin merupakan antibiotika berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif yang bekerja merintangi sintesa protein (Tan dan Rahardja, 2008).Kemudian ditambahkan oleh Mufidah *et al.,* (2010), Antibiotik golongan tetrasiklin yang pertama kali ditemukan adalah klortetrasiklin yang dihasilkan oleh *Streptomyces aureofaciens*.Kemudian ditemukan oksitetrasiklin dari *Streptomyces rimosus.*Tetrasiklin sendiri dibuat secara semisintetik dari klortetrasiklin, tetapi juga dapat diperoleh dari spesies *Streptomyces* lain.

Bakteri patogen dikatakan resisten terhadap tetrasiklin jika membentuk diameter zona hambat 14 mm atau kurang. Dikatakan agak resisten jika membentuk diameter zona hambat 15 mm – 18 mm. Dikatakan peka jika

membentuk diameter zona hambat 19 mm atau lebih (Bonang dan Enggar, 1982). Berdasarkan hasil penelitian*S. aureus* dikatakan agak resisten terhadap tetrasiklin dikarenakan membentuk zona hambat sebesar 15,9 mm. Untuk *E. coli* dan *S. thypii* dikatakan resisten terhadap tetrasiklin dikarenakan membentuk zona hambat masing-masing sebesar 15,3 mm dan 14,8 mm. Perlakuan terbaik dari uji cakram dari ekstrak *Sargassum* spp yang diekstrak dengan menggunakan pelarut heksan dan etil asetat dengan perbandingan 50 : 50 pada *S. aureus, E. colli*dan *S. typhii* memiliki zona hambat dengan rata-rata 8,4 mm, hal ini menjelaskan bahwa senyawa antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp bersifat resisten. Meskipun belum efektif digunakan pada bakteri *S. aureus, E. colli,* dan *S. typhii*, namun dari penelitian ini mampu didapatkan informasi adanya aktivitas antibakteri dari senyawa yang diekstrak dari *Sargassum* spp.

4.2 Uji Fitokimia

Hasil pengujian kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak rumput laut *Sargassum* spp dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Fitokimia Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil asetat

Jenis Pengujian	**Hasil Pengujian / Pemeriksaan**
Uji fitokimia	***Sargassum* spp**
Alkaloid	++
Tanin	-
Saponin	+
Flavonoid	+
Terpenoid	+

Keterangan :
- \- : Negatif
- \+ : Positif lemah
- ++ : Positif

Pada tabel 3 memperlihatkan bahwa pada ekstrak *Sargassum* spp mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan terpenoid. Pada saponin dan flavonoid menghasilkan positif lemat. Menurut Septiana *et al.*, (2012) hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa metode ektraksi dan jenis pelarut tidak mempengaruhi kandungan flavonoid dan saponin. Hal ini diduga karena dalam berdasarkan strukturnya, flavonoid maupun saponin mempunyai bagian yang bersifat polar maupun non polar dengan bagian yang hampir sama. Seperti halnya flavonoid dan saponin, terpenoid mempunyai bagian polar dan non polar, tetapi non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan bagian polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar.

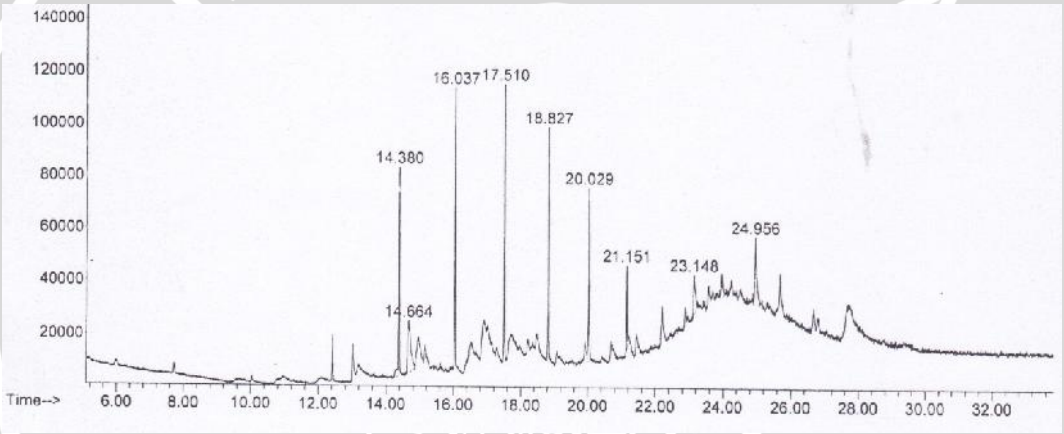
Pada alkaloid juga menghasilkan positif, menurut Setyati *et al.,* (2005), alkaloid merupakan senyawa nitrogen yang mempunyai kemampuan bioaktivitas. Sumber senyawa alkaloid potensial terdapat pada tumbuhan yang tergolong dalam kelompok gimnospermae, paku-pakuan, lumut dan tumbuhan tingkat rendah lainnya namun beberapa peniliti ada yang mengatakan bahwa alkaloid banyak terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.,* 2009). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Bowo *et.al.*, 2009). Berdasarkan hasil pengujian fitokimia

makan *Sargassum* spp dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung berbagai senyawa bioaktif yang bisa menghambat dan membunuh bakteri.

4.3 Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi untuk menentukan profil senyawa antibakteri dalam ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat dilakukan dengan menggunakan uji GC-MS. Adapun hasil dari GC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu atau dua jenis senyawa. Senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak *Sargassum* spp dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 11. Spektra ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat

Berdasarkan hasil kromatografi tersebut, ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat yang diduga mengandung macam-macam senyawa antibakteri berupa jenis senyawa alkana, alkena, alkanol dan asam karboksilat dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

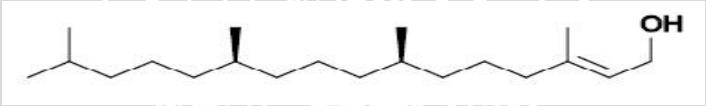
Tabel 4. Senyawa yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat

Puncak	Senyawa yang diduga
1	*2-hexadecen-1-ol*
2	*Octadecamethylcyclononasiloxane*
3	*Eicosamethylcyclodecasiloxan*
4	*Cyclooctasiloxane,hexadecamethyl*
5	*Cyclooctasiloxane*
6	*Benzothiaz*
7	*Silicone oil*

Dari hasil uji Spektraekstrak heksan dan etil asetat dengan perbandingan 50 : 50 di dapat senyawa yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp adalah sebagai berikut :

1. *2-hexadecen-1-ol*

Di dalam senyawa ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terdapat senyawa *2-hexadecen-1-ol*. Struktur molekul *2-hexadecen-1-ol* dapat dilihat pada Gambar 12 dibawah ini:



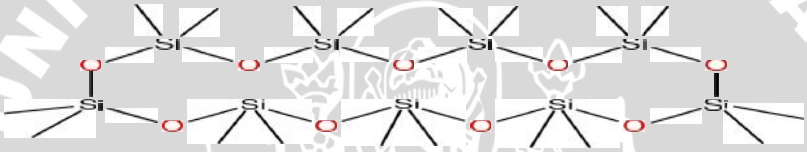
Gambar 12. Struktur molekul 2-Hexadecene-1-OL

Senyawa *2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene* dikenal dengan nama lain squalene. Squalene mempunyai aktivitas sebagai antikanker, antimikroba, antioksidan, chemopreventif, pestisida, antitumor dan sunscreen (Jananie *et al*., 2011). Aktivitas senyawa 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-Tetram dapat berperan sebagai antimikroba dan antiinflamasi (Janani *et al*., 2011) serta antioksidan (Raman *et al*., 2012). Neophytadiene 2,6,10-Trimethyl, memiliki aktivitas untuk antipireutik, analgesik, antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan (Raman *et al*., 2012).

Senyawa bioaktif yang terdapat pada jenis alga dan sponsyang diduga sebagai senyawa antibakteri*1-Hexadecene* (CAS) dapat menghambat proliferasi sel tumor dan mampu menginduksi apoptosis. Senyawa ini diduga memiliki andil besar dalam proses sitotoksik sel Hela meskipun mekanisme biomolekuler dalam menghambat proliferasi belum diketahui dengan jelas(*Syam et al*., 2010).

2. *Octadecamethylcyclononasiloxane*

Di dalam senyawa ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terdapat senyawa *Octadecamethylcyclononasiloxane*. Struktur molekul *Octadecamethylcyclononasiloxane* dapat dilihat pada Gambar 13 dibawah ini :



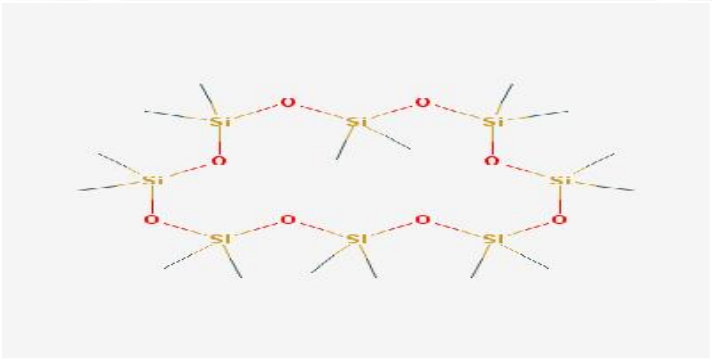
Gambar 13. Struktur molekul *Octadecamethylcyclononasiloxane*

Senyawa *Octadecamethylcyclononasiloxane* ini memiliki rumus molekul C18H54O9Si9. Senyawa ini banyak terkandung pada tanaman jenis *Thaumatococcus Danielli* Sebuah survei literatur tentang *Thaumatococcus Danielli* menunjukkan berbagai investigasi dan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, antrakuinon dan glikosida jantung. Selain itu, komposisi mineral, evaluasi biologi dan kimia dari limbah *Thaumatococcus Danielli*, dan serta, antimikroba, autolytic dan proteolitik. Analisis fitokimia sebelumnya *Thaumatococcus Daniellii* menyebabkan isolasi karbohidrat, tripsin inhibitor, protease, thaumatins I dan II. Meskipun, efektivitas dari *octadecamethyl cyclononasiloxane* sebagai konstituen minyak esensial belum diketahui. Namun, jelas bahwa aktivitas antioksidan dan efek toksik yang relatif lemah dari *Thaumatococcus Daniellii* mungkin telah berkontribusi untuk penggunaannya

dalam industri makanan dan obat-obatan, serta obat tradisional dari beberapa Afrika Barat negara.

3. *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl*

Di dalam senyawa ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terdapat senyawa *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl*. Struktur molekul *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl*dapat dilihat pada Gambar 14 dibawah ini :

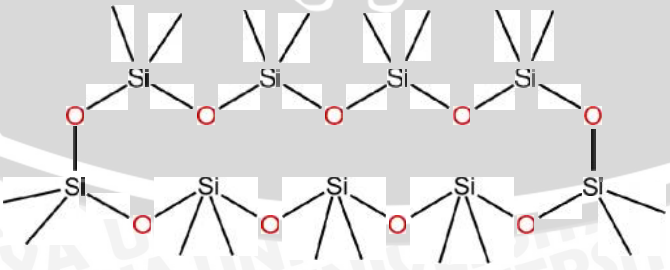


Gambar 14. Struktur molekul *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl*

senyawa yang terkandung adalah *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl* yang mempunyai rumus molekul$C_{16}H_{48}O_8Si_8$ dan mempunyai berat molekul 593.

4. *Cyclooctasiloxane*

Di dalam senyawa ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terdapat senyawa *Cyclooctasiloxane*. Struktur molekul *Cyclooctasiloxane* dapat dilihat pada Gambar 15 dibawah ini :

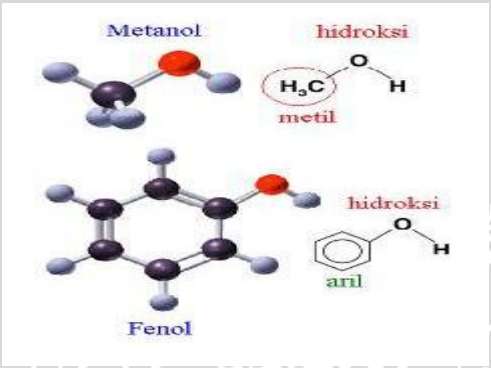


Gambar 15. Struktur molekul *Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl*

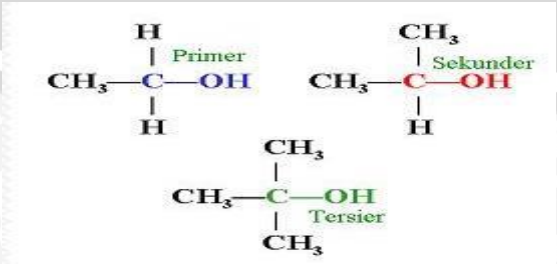
Senyawa ini tergolong dalam*Cyclopentadecasiloxane* yang mempunyai senyawa – senyawa golongan alkena, alkanol dan asam karboksilat diduga

memiliki peran sebagai antibakteri. Alkena merupakan kelompok hidrokarbon yang terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum CnH_2n. Senyawa alkena memiliki ikatan rangkap dalam struktur molekulnya yang memungkinkan untuk berikatan dengan molekul lain. Alkanol merupakan senyawa turunan alkana yang salah satu atom H nya diganti oleh gugus fungsi OH sehingga memiliki rumus umum $C_nH_{2n+2}O$. (Kusjayaputri, 2013).

Alkanol atau alkil atau aril (sikloalkil) alkohol merupakan senyawa monohidroksi turunan dari alkana, dimana salah satu atom H diganti gugus oleh gugus hidroksi (OH).



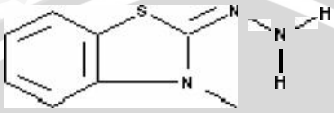
Alkohol memiliki rumus umum CnH2n+2O. Berdasarkan jenis atom C dalam rantai alkana yang mengikat gugus OH, maka alkohol dapat dibedakan menjadi alkohol primer, sekunder dan tersier. Alkohol primer, gugus hidroksi terikat pada atom C primer, demikian pula seterusnya untuk alkohol sekunder, gugus hidroksi pada C sekunder dan alkohol tersier, gugus OH terikat pada atom C tersier.



Dari penjelasan diatas dapat ditentukan bahwa senyawa-senyawa pada ekstrak *Sargassum* spp merupakan senyawa alkanol sebagai antibakteri.

5. *Benzothiaz*

Di dalam senyawa ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat terdapat senyawa *Benzothiaz*. Struktur molekul *Benzothiaz* dapat di lihat pada Gambar 16 dibawah ini :



Gambar 16. Struktur molekul *Benzothiazinones*

Benzothiazine adalah senyawa heterosiklik yang terdiri dari cincin benzena melekat pada heterosiklik thiazine 6-beranggota. Nama ini digunakan untuk kedua 2H-(atas) dan 4H-(bawah) isomer molekul. 2,1-Benzothiazine, jenis benzothiazines pertama kali dilaporkan pada tahun 1960. Selanjutnya, persiapan mereka dan intensif studi biologi dan fisiologis telah dilaporkan. Dalam beberapa tahun terakhir, 2,1-benzothiazines telah kepentingan yang sangat besar bagi ahli kimia sintetis. Sebuah sintesis enantioselektivitas dari benzothiazines tersebut telah dikembangkan oleh Harmata dan Hong yang telah merumuskan transformasi senyawa ini dirancang untuk menargetkan kiral, blok bangunan non-rasemat serta produk alami (Molecules, 2009).

Obat baru diperlukan untuk melawan tuberkulosis (TB) pandemi. Di sini, kita menggambarkan sintesis dan karakterisasi 1*,3-benzothiazin-4-orang* (BTZs), kelas baru agen antimycobacterial yang membunuh *Mycobacterium tuberculosis in vitro, ex vivo*, dan di mouse model TB. Menggunakan genetika dan biokimia, kami mengidentifikasi enzim *decaprenylphosphoryl-beta-d-ribose 2'-epimerase* sebagai target BTZ utama. Penghambatan aktivitas enzim ini menghapuskan pembentukan *decaprenylphosphoryl arabinosa*, prekursor kunci yang diperlukan untuk sintesis arabinans dinding sel, sehingga memicu lisis sel dan kematian

bakteri. Senyawa yang paling canggih, BTZ043, merupakan kandidat untuk dimasukkan dalam terapi kombinasi untuk kedua TB yang sensitif terhadap obat dan ekstensif resistan terhadap obat (Molecules, 2009).

6. *Silicone oil*

Silikon oil adalah cairan dengan sifat tidak berwarna, transparan, tidak berasa, tidak berbau, sebagai pemadat, tegangan permukaan rendah, tahan air, tidak berbusa, dapat beradaptasi baik dalam saluran akar, tidak berubah oleh cairan jaringan dan darah, tidak mengiritasi dan merusak jaringan dan resistan (tahan) terhadap formasi thrombus Kemampuan beradaptasi sebagai bahan pengisi saluran akar Karena tahan air (water resistant) bahan ini dapat mencegah cairan yang masuk melalui foramen apical (lubang pada ujung saluran akar). Silicon oil mempunyai viscositas (derajat kekentalan) rendah yang dapat beradaptasi baik pada saluran akar.

Aktivitas anti bakteri Sebagai bakteriostatik yang menghambat pertumbuhan *Streptococcus autans, Lactovacilluscasei, Staphylococcus aureus*. Respon terhadap jaringan Vitapex yang ditanam dalam jaringan sub kutan, (dibawah kulit) otot dan periosteu makan menyebabkan terbentuknya jaringan terkalsifikasi (jaringan yang mengalami penulangan) irregular dan terbentuk penulangan baru pada permukaan (terlihat pada penelitian Vitapex padatikus wistar (Matsui, 1997).

4.4 Mekanisme Penghambatan Bakteri

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terdapat kecenderungan untuk zona hambat *S.aureus* lebih besar jika dibandingkan dengan zona hambat *E.coli* dan *S.Typhii*. Hal ini dapat disebabkan bakteri gram positif, yaitu *S.aureus* memiliki sifat yang cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri.

Perbedaan bakteri positif dan bakteri negatif yaitu pada bakteri gram positif 90% dinding selnya terdiri lapisan peptidoglikan, sedangkan bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan hanya sekitar 5% - 20%. Senyawa antibakteri dapat mencegah sintesis peptidoglikan pada sel yang sedang tumbuh, maka bakteri gram positif umumnya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif (Fadhilla, 2010).

Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antibakteri bereaksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan melarutkan konsituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya. Membran sel bakteri terdiri dari fosfolipid dan molekul protein. Akibat peningkatan permeabilitas, senyawa antibakteri dapat masuk ke dalam sel. Ketika di dalam sel, senyawa tersebut dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel tersebut (Banwart, 1999).

Membran luar memiliki saluran khusus, yang terdiri dari protein yang disebut porin, yang dapat meloloskan difusi pasif dari beberapa molekul hidrofilik dengan berat rendah, misalnya gula, asam amino, dan ion tertentu. Molekul antibiotik yang besar menembus membran luar dengan sangat lambat, sehingga bakteri gram positif relatif tidak tahan terhadap antibiotik (Jawets, 2009).

Buck (2001) menyatakan bahwa awal terjadinya interaksi mekanisme antimikroba pada bakteri gram negatif umumnya senyawa antimikroba akan dihambat oleh membran luar berupa lipopolisakarida. Kemudian terjadi akumulasi yang kemudian mengganggu ikatan-ikatan hidrofilik membran luar. Secara selektif sebagian senyawa antimikroba dengan ukuran molekul kecil masuk melaui protein plorin hingga menuju sitoplasma.

Senyawa-senyawa antibakteri diduga memiliki aksi sinergis di dalam penghambatan pertumbuhan bakteri. Senyawa alkanol dan senyawa asam karboksilat memiliki aksi yang khas di dalam proses penghambatan dimana alkanol bekerja melalui aksi mendenaturasi protein, merusak membran sel,

sarana dehidrasi sel serta aksi detergen atau merupakan penghubung antara ikatan hidrofilik dan hidrofobik. Asam karboksilat bekerja melalui aksi memecah ikatan hidrogen dan mendenaturasikan protein. Tingkat aktivitas germisidal dari alkanol adalah sedang, sedangkan asam karboksilat bersifat sedang hingga tinggi. Bila alkanol dikombinasikan dengan asam karboksilat maka aktivitasnya akan meningkat menjadi germisidal tingkat aktivitas tinggi (Pelczar dan Chan, 2005).

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Konsentrasi 15.000 ppm ekstrak heksan dan etil asetat *Sargassum* spp menghasilkan zona hambat terkuat terhadap *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli*.

Senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak heksan dan etil asetat *Sargassum* spp untuk menghambat *S. aureus, S. typhi* dan *E. coli* yaitu alkaloid, saponin, flavonoid dan terpenoid.

Indentifikasi senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak heksan dan etil asetat *Sargassum* spp yang menghambat *S. aureus, S. typhi* dan *E. Coli* antara lain *2-hexadecen-1-ol, octadecamethylcyclononasiloxane, cyclootasiloxane, benzthiaz dan silicone oil*.

5.2 Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar digunakan ekstrak heksan dan etil asetat *Sargassum* spp dengan konsentrasi yang lebih tinggi, agar dihasilkan daya hambat luas untuk anti bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Atmadja,W. S. 2004. Rumput Laut Sebaagai Obat. Oseana Volume XVII. 1:1-8

B. Helliwel, J.M.C. Gutteridge, Free Radical inBiology and Medicine. 3rd ed. Oxford UniversityPress, 1999, p. 23-31, 105-115].

B.N. Meyer, N.R. Feerigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobson, D. E. Nicholas, J. L. McLaughlin, Planta Medica 45 (1982) 31-34

Badan Pengawas Obat danMakanan RI. 2004. Bahan Tambahan Ilegal Boraks,Formalin dan Rhodamin B. *Food Watch Sistem Pengamanan PanganTerpadu*

Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York.

Darwis, D. 2000. Uji Kandungan Fitokimia Metabolit Sekunder. Metode Lapangan dan Laboratorium. Workshop Pengembangan Sumberdaya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. DITJEN DIKTI DEPDIKNAS, Padang, 9-14.

Deval, A.G., G. Platas, A. Basilio, A. Cabello, J. Gorrochategui, I. Suay, F. Vicente, E. Portilllo, M.J. del Rio, G.G. Reina, F. Peláez. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). Int. Microbiologi. 4: 35-40.

Dawson. 1996. An Introduction to Marine Sciense. Blackie Academic and Profesional. London

Fateha, 2007. Teknik Penanganan Pascapanen Rumput laut Coklat, *Sargassum filipendulla* sebagai Bahan Baku Alginat. Teknisi Litkayasa Pada balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Bul. Tek. Lit. Akuakultur Vol.6 No.1 Tahun 2007.

Hay, M.E. 1996. Marine chemical ecology: what's known and what's next. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 200: 103-134.

Harborne , J. B 1987. Metode Fitokimia. Tejemahan K. Padmawinata dan I. Soediso. Penerbit ITB. Bandung

Hedetniemi, Kevin dan Liao, Min-Ken. 2006. *Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses : Escherichia coli*. www.microbelibrary.org[22 November 2009].

Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* **L.**) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan*Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Universitas Erlangga*.

Hijaz Melka Nurul. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan dalam Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dan *Gracillaria verrucosa.* Universitas Islam Negeri Malang. Malang

Jawetz. E., J. Melnick, L. Adelberg, E.A. 2005. Microbiologi Untuk Profesi Kesehatan. Terjemahan Huriati dan Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Juliantina, F. R., Ayu, D. C. M, dan Nirwani, B. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram

Lathifah, Q.A., 2008, Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri padaBuah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) dengan Variasi Pelarut,Skripsi Mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Malang, Malang.

Kadi, A. dan W.S. Atmadja. 1988. Rumput Laut, Jenis, Reproduksi, Produksi, Budidaya, dan Pasca Panen. Puslitbang Oceanologi-LIPI. Jakarta

Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *(Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53.

Khotimah, Khusnul. 2013. uji aktivitas senyawa aktif alga coklat (*sargassum fillipendulla*) sebagai antioksidan pada minyak ikan lemuru (*sardinella longiceps*)thpi student journal, vol. i no. 1 pp 10-20 universitas brawijaya recieved 07 february 2013, accepted 15 may 2013 (1 april 2014)

Majid. 2012. Praktikum Marine Biologi (Botani), http:/majidundip.blogspot.com/ 2008_11_01_archive.html Diakses pada tanggal 26 Febuari 2012 pukul 10.00 WIB.

Maharani MA, Widyayanti. 2009. Pembuatan alginat dari rumput laut untuk menghasilkan produk dengan rendemen dan viskositas yang tinggi. Universitas Dipenogoro

McMurry, J. & R.C. Fay. 2004. McMurry Fay Chemistry. 4th edition. Belmont, CA, Pearson Education International.

Moelyono, M.W., 1996. *Panduan Praktikum Analisis Fitokimia.* Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Padjadjaran. Bandung.

Molecules, 2009. 2-Amino- and 2-Alkylthio-4H-3,1-benzothiazin-4-ones: Synthesis, Interconversion and Enzyme Inhibitory Activities.www.mdpi.com/journal/molecules

Montano, N.E and Tupas, L.M. 1990. Plant Growth Hormonal Activities of Aquenous Extraces from Philipines Seaweeds. Marine Sciense Institute. University of Philipines.

Muscthler, 1991. Dinamika Obat. Terjemahan M. B. Widianto dan A.S Ranti. Penerbit ITB. Bandung.

Nohong. 2009. Skrining Fitokimia Tumbuhan Ophiopogon jaburan Lodd dari Kabupaten Kolaka Provinsi Sulawesi Tenggara. FMIPA, Universitas Haluoleo Kendari. Jurnal Pembelajaran Sains, 5 (2) : 172-178.

Notji, A. 1987. Laut Nusantara. Djembatan. Yakarta
.

Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* terhadapBakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta.

Rachmat, R. 1999. Pemanfaatan Produk Alam Algae Laut untuk Obat dan Kosmetik. Prosiding Pra Kipnas VII Forum Komunikasi I Ikatan Fikologi Indonesia (IFI).

Robinson, T., 1991. *The Organic Constituen of HigherPlants.* 6th Edition. Department of Biochemistry. University of Massachusetts

Rochman, A dan Rianto. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning. Antioxidant Activities, Total Phenolic and Flavonoid Contents Of Ethyl Acetate Extract Of Mengkudu (Morinda citrifolia, L) Fruit and Its Fractions. Majalah Farmasi Indonesia, 17 : 137-138.

Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F.C. Neidhardt,and C.G. Roy. 1994. *Medical Microbiology An Introduction to InfectiousDiseases.* 3rd ed. Connecticut: Appleton&Lange. p.254.

Sastrohamidjojo, H. 1996. Sintesis Bahan Alami. Gadjah Mada University Press. Yogjakarta

Sastry and Rao. 1994. Antibacterial Substance From Marine Algae. Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol. Department of Biochemistry, Institute of Medical Science, Banaras Hindu University. India.

Sirait, M. 2007 Penuntun Fitokimia dalam farmasi. ITB Bandung

Siriwardhana, N., Lee K. W. Dan Kim S. H. 2003. Antioxidants Activity ofFusiformis on reactive oxygen Species Scavinging and Peroxidation Inhibition. Food Sci. And Technol. Int. (5): 339-348

Sutisna, I. 2000. Isolasi dan Karakterisasi senyawa Triterpenoid Lanostana dari Kulit Kayu Danglo (Macaranga javanica Muell. Arg). Skripsi Jurusan Kimia FMIPA. Institut Pertanian Bogor.

Todar. K. 2008. *Bacillus cereus Keracunan Makanan*.www.textbookofbacteriology.net [22 Oktober 2009].

Warsa, U.C. 1994. Staphylococcus dalam *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran.*Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. hal. 103-110.

Winarno .M.W dan Sundari D. 1996. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat Diare di Indonesia. Cermin Dunia Kedokteran 109 : 25-32.

Winston, J.E. 1988. The systematist' perspective. In: D.G. Fautin (ed.). Biomedical Importance of Marine Organisms. pp. 1-6. California Academy of Sciences, San Francisco.

Z.Y. Wang, S.J. Cheng, Z.C. Zhou, M. Athar, W.A. Khan, D.R. Bickers, H. Mukhtar, Mutat. Res, 223 (1989) 273-285

LAMPIRAN

Lampiran 1. Berat Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil Asetat.

Sargassum	W_p (g)	W_c0 (g)	W_c1 (g)
Sargassum A	50	23,50	24,70
Sargassum B	50	23,14	24,25
Sargassum C	50	23,30	24,55

Keterangan : W_p = berat sampel yang di ekstrak
W_c0 = berat cawan kosong
W_c1 = berat cawan isi

Rendemen Ekstrak $= \frac{Wc1-Wc0}{Wp} X\ 100\%$

1. Ekstrak *Sargassum* A
   Rendemen Ekstrak = $\frac{24,70-23,50}{50} X\ 100\%$ = 2,4%
2. Ekstrak *Sargassum* B
   Rendemen Ekstrak = $\frac{24,25-23,14}{50} X\ 100\%$ = 2,2%
3. Ekstrak *Sargassum* C
   Rendemen Ekstrak = $\frac{24,55-23,30}{50} X\ 100\%$ = 2,5%

Lampiran 2. Rata-Rata Rendemen Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan dan Etil Asetat.

Rendemen				
Sargassum A	*Sargassum B*	*Sargassum C*	Rerata	Standar deviasi
2,4	2,2	2,5	2,37	0,1

Lampiran 3. Pembuatan Media Muller Hilton Agar (MHA)

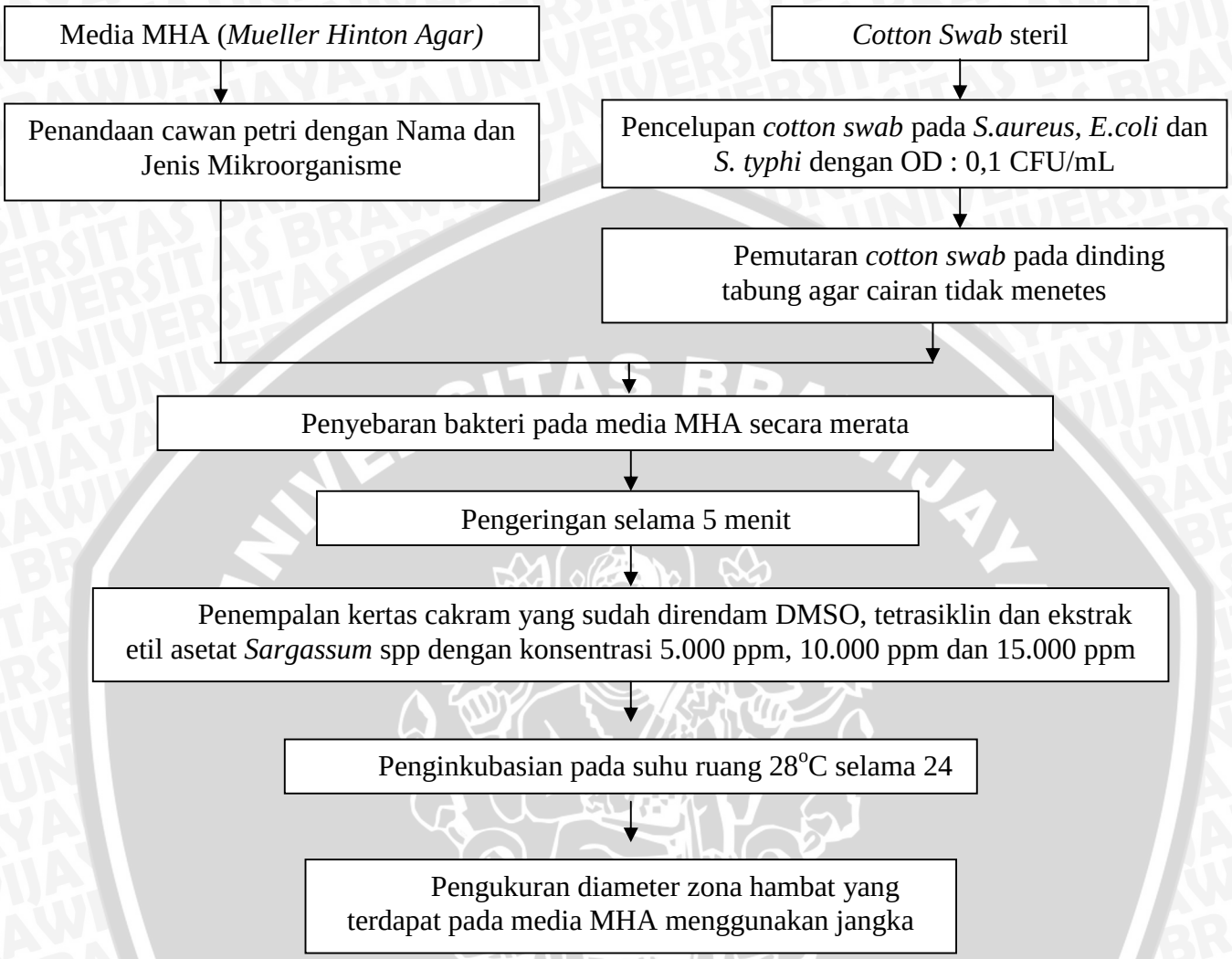
Komposisi	**Jumlah (gr)**
Casein hidrolysate	17,5
Starch	1,5
Agar	13
Infusion from meat	2,0

Sumber : Label media MHA

Cara Pembuatan :

- Ditimbang 34 gram media MHA dan dimasukkan erlenmeyer
- Ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit sambil digoyang sampai 1 L
- Dimasukkan dalam waterbath dengan suhu 100^{o}C selama 15 menit
- Erlenmeyer sesekali digoyang untuk membantu agar larutan menjadi homogen selama pemanasan dalam waterbath
- Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlenmeyer, media tersebut disterilisasi dalam autoclave suhu 121^{o}C tekanan 1 atm selama 15 menit
- Media yang sudah steril diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 24 jam untuk uji sterilitas media.
- Media yang sudah disterilisasi siap digunakan

Lampiran 4. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer



Lampiran 5. Pengenceran Bahan Uji

1. Pembuatan $FeCl_2$ 1%

- Timbang $FeCl_2$ sebanyak 1 gram
- Kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL aquades

2. Pembuatan NaOH 2N

- Timbang NaOH sebanyak 8 gram
- Kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL aquades

Banyaknya NaOH yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $2N = \frac{x}{Mr} X \frac{1000}{V}$

$2N = \frac{x}{40} X \frac{1000}{100}$

= 8 gram

3. Pembuatan HCl 2N

- Timbang HCl sebanyak 1,16 gram
- Kemudian dilarutkan dalam 12 mL aquades

Banyaknya NaOH yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $2N = \frac{x}{Mr} X \frac{1000}{12}$

$2N = \frac{x}{36} X\ 83{,}3$

= 1,16 gram

Lampiran 6. Perhitungan DMSO 4% dan Konsentrasi 15.000 ppm, 10.000 ppm dan 5.000 ppm

- DMSO 4% = 4 ml DMSO murni dilarutkandalam aquadest sampai 10 ml

$$= \frac{0{,}4}{10} \times 100\% = 4\%$$

- 1 ppm = 1 mg/L = 1 µg/ml
- Prosedur Pembuatan Stok 15000 ppm

Perhitungan konsentrasi 15000 ppm = 15000 mg/L

= 15000 mg/1000ml

= 15 mg/1ml

= 1500mg/100ml

Total stock ekstrak = 1500 mg = 1,5 g dilarutkan dalam 1 mL DMSO 4 %

- Perhitungan konsentrasi 10.000 ppm

V1.N1 = V2.N2

1 x 10.000 = ɤ x 15.000

$$ɤ = \frac{10.000}{15.000}$$

= 0,67 mL + 0,33 mL DMSO 4%

- Perhitungan konsentrasi 5.000 ppm

V1.N1 = V2.N2

1 x 5.000 = ɤ x 10.000

$$ɤ = \frac{5.000}{10.000}$$

= 0,5 mL + 0,5 mL DMSO 4%

Lampiran 7. Data Zona Hambat *Sargassum* spp Terhadap Pertumbuhan *S.aureus, E.coli dan S. typhi*

Zona bening *S.aureus*

Perlakuan	*Sargassum* A SA	*Sargassum* B SA	*Sargassum* C SA	Rerata ± Standar Deviasi (mm)
KONTROL +	16,1	15,9	15,7	15,9 ± 0,14
15.000 ppm	10,32	10,28	10,6	10,4 ± 0,12
10.000 ppm	7,8	7,7	7,7	7,73 ± 0,04
5.000 ppm	5,4	7,3	5,8	7,5 ± 1,56

Zona bening *E.coli*

Perlakuan	*Sargassum* A EC	*Sargassum* B EC	*Sargassum* C EC	Rerata ± Standar Deviasi (mm)
KONTROL +	15,5	15,2	15,4	15,4 ± 0,11
15.000 ppm	9,7	9,45	9,8	9,65 ± 0,13
10.000 ppm	7,6	7,2	7,8	7,5 ± 0,21
5.000 ppm	6	7,55	8	7,18 ± 0,74

Zona bening *S.typhi*

Perlakuan	*Sargassum* A ST	*Sargassum* B ST	*Sargassum* C ST	Rerata ± Standar Deviasi (mm)
KONTROL +	15,1	14,6	14,7	14,8 ± 0,19
15.000 ppm	10,1	9,6	9,8	9,8 ± 0,18
10.000 ppm	7,6	8,1	7,8	7,83 ± 0,18
5.000 ppm	7,8	7,2	6,9	7,3 ± 0,32

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

1. *Sargassum* spp segar

2. Pengeringan *Sargassum* spp

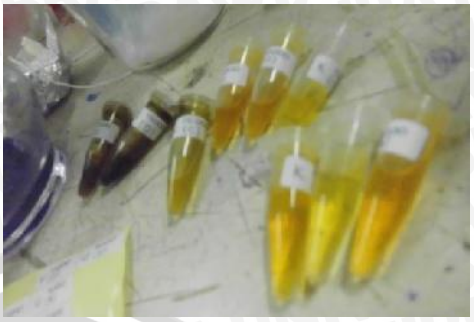
3. Penepungan *Sargassum* spp

4. Penimbangan *Sargassum* spp

5. Perendaman *Sargassum* spp dengan etil asetat

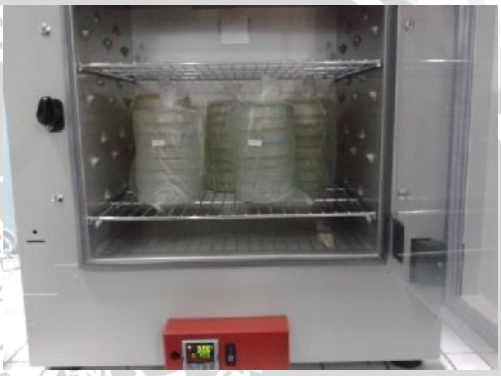
6. Penyaringan Ekstrak *Sargassum* spp

7. Pemisahan Pelarut dengan *vacuum rotary evaporator*



8. Ektrak *Sargassum* spp Etil Asetat

9. Uji Cakram

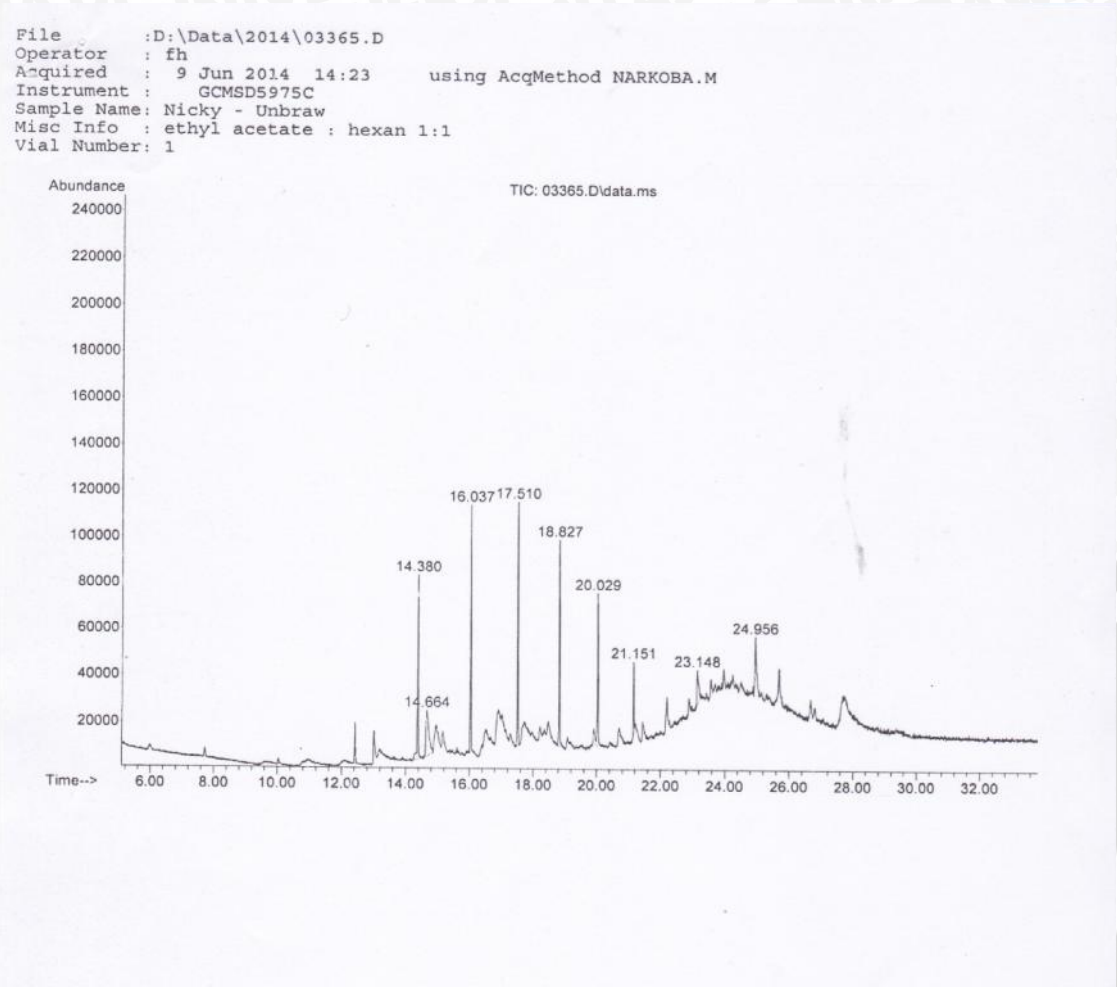


10. Proses inkubator suhu ruang (37ºC) selama 1x24 jam

11. Uji GC-MS

12. Uji Fitokimia

Lampiran 9. Spektra ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dan etil asetat



Data Path : D:\Data\2014\
Data File : 03365.D
Acq On : 9 Jun 2014 14:23
Operator : fh
Sample : Nicky - Unbraw
Misc : ethyl acetate : hexan 1:1
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	14.379	14.66	C:\Database\W9N11.L			
			OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE $$ Cyclononasiloxane, octadecamethyl - (CAS)	808247	000556-71-8	87
			Cyclononasiloxane, octadecamethyl- $$ Octadeamethyl-cyclononasiloxan	808245	000556-71-8	74
			OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE $$ Cyclononasiloxane, octadecamethyl - (CAS)	808246	000556-71-8	74
2	14.665	12.61	C:\Database\W9N11.L			
			2-HEXADECEN-1-OL, 3,7,11,15-TETRAMETHYL-, [R-[R*,R*-(E)]]- (T-PHYTOL	455634	998455-63-4	68
			Phytol $$ 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455612	000150-86-7	68
			Neophytadiene $$ 7,11,15-TRIMETHYL,3-METHYLENE-1-HEXADECENE	405540	000504-96-1	64
3	16.039	16.33	C:\Database\W9N11.L			
			EICOSAMETHYLCYCLODECASILOXANE $$ Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	813298	018772-36-6	90
			Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	813296	018772-36-6	70
			EICOSAMETHYLCYCLODECASILOXANE $$ Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	813297	018772-36-6	70
4	17.509	16.08	C:\Database\W9N11.L			
			Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl- $$ Hexadecamethyl-cyclooctasioxan	798044	000556-68-3	74
			Hexadecamethylcyclooctasiloxane $$ Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl - (CAS)	798045	000556-68-3	72
			TETRACOSAMETHYLCYCLODODECASILOXANE	817210	018919-94-3	50
5	18.825	14.72	C:\Database\W9N11.L			
			BISTRIMETHYLSILYL N-ACETYL EICOSAS PHINGA-4,11-DIENINE	774608	998774-60-8	86
			1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	728599	038147-00-1	86
			1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	728600	038147-00-1	86
6	20.027	11.57	C:\Database\W9N11.L			
			Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl- $$ Hexadecamethyl-cyclooctasioxan	798044	000556-68-3	70
			BISTRIMETHYLSILYL N-ACETYL EICOSAS PHINGA-4,11-DIENINE	774608	998774-60-8	64
			Hexadecamethylcyclooctasiloxane $$ Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl - (CAS)	798045	000556-68-3	62
7	21.154	5.37	C:\Database\W9N11.L			
			SILICONE OIL $$ SILIKONFETT SE30 (GREVELS)	819400	000000-00-0	72
			OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE $$ Cyclononasiloxane, octadecamethyl - (CAS)	808246	000556-71-8	47
			Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-	813296	018772-36-6	47

Data Path : D:\Data\2014\
Data File : 03365.D
Acq On : 9 Jun 2014 14:23
Operator : fh
Sample : Nicky - Unbraw
Misc : ethyl acetate : hexan 1:1
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
8	24.953	8.66	C:\Database\W9N11.L			
			(+-)-13-norisocopalane-15-methanes	599637	121894-03-9	78
			ulphonate			
			[1S-(1.alpha.,2.beta.,4a.alpha.,8a	673788	087764-14-5	64
			.alpha.)]-2-[(decahydro-1,2,4a-tri			
			methyl-5-met			
			3-Ethyl-N-nitroso-2(3H)-benzothiaz	200246	998200-24-6	30
			ole - imine			